

# Gebruik van genetiese manlike steriliteit in herhalende seleksie met koring (*Triticum aestivum*)

Willem Cornelus Botes



Tesis ingelwer ter gedeeltelike voldoening aan die vereistes vir die graad  
Magister in die Landbouwetenskappe aan die Universiteit van Stellenbosch

Studieleier: Prof G.F. Marais

Maart 2001

## VERKLARING

Ek, die ondergetekende, verklaar hiermee dat die werk in hierdie tesis vervat, my eie oorspronklike werk is wat nog nie voorheen in die geheel of gedeeltelik by enige ander Universiteit ter verkryging van 'n graad voorgelê is nie.

W.C. Botes

## OPSOMMING

Herhalende seleksie word by kruisbestuiwers aangewend om die frekwensie voordelige allele te verhoog deur die opbreek van bestaande koppelingsblokke en vorming van nuwe geen-kombinasies. Hoewel uitstekende resultate m.b.v. herhalende seleksie reeds by koring verkry is, is die roetine aanwending egter beperk weens die gebrek aan effektiewe kruisbestuiwing van groot getalle plante. In China is “Taigu” genetiese manlike steriliteit, *Ms2*, egter met sukses aangewend vir die vestiging van ‘n herhalende seleksieprogram vir landverboude koring. Die manlik-vrugbare plante word vir die bestuiwing van geselekteerde manlik-steriele plante aangewend (Huang *et al.*, 1988).

Nog ‘n dominante manlike steriliteitsgeen, *Ms3*, is ontdek na EMS behandeling van sade afkomstig vanaf ‘n alloplasmiese gewone koring met ‘n *Triticum tauschii* sitoplasma (Maan *et al.*, 1984) en is gesetel op chromosoom 5AS, 3 kaarteenhede vanaf die sentromeer (Maan *et al.*, 1987). ‘n Ondersoek na die frekwensie natuurlike kruisbestuiwing onder landtoestande (Welgevalen, 1999) het getoon dat onvolledige penetrasie van *Ms3* lei tot ongeveer 5% selfbestuiwing en dat slegs twee-derdes van die saadset aan kruisbestuiwing toegeskryf kon word. *Ms3* word wel stabiel uitgedruk onder normale glashuistemperature tydens blom nl. 16 - 25°C, maar onder warmer landtoestande, 21 - 35°C, is uitdrukking onstabiel met laer penetrasie van die geen (Maan *et al.*, 1984). Die benutbaarheid van *Ms3* onder landtoestande was dus onbevredigend.

Die ondersoek na die oorsprong en ligging van ‘n onbekende, manlike steriliteitsgeen (95K3) wat ontdek is in ‘n roetine teelprogram het daarop gedui dat ‘n enkellokus waarskynlik nie ter sprake is nie, maar eerder chromosoom-abnormaliteite en geenwanbalanse. Die manlike steriliteit kan verband hou met ‘n *T.urartu* addisie chromosoom in die stamboom van hierdie bron.

Ten einde kruisbestuiwing van ‘n groot aantal plante te bewerkstellig, is ‘n eenvoudige bestuiwersisteem ontwikkel gegrond op waterkultuurkweking van afgeknippte manlik-steriele (*Ms3ms3*), are. Manlik-steriele en manlik-vrugbare are is tydens blom geknip. Die manlik-steriele are se blommetjies is oopgeknip en toegelaat om deur die manlik-vrugbare are bestuif te word. Die bestuifde manlik-steriele are (*Ms3ms3*) is hierna vir ongeveer 8 weke gelaat vir saadvorming.

Afgeknippte are kan baie suksesvol in voedingsmedium onderhou word mits sekere eenvoudige voorsorgmaatreëls getref word, naamlik: (a) Die are moet met sorg hanteer word en die vlagblaar moet so lank as moontlik behou word. Are moet weekliks teruggeknip word ten einde verstopping en agteruitgang van vaatweefsel teen te werk. Die oorspronklik-



afgeknippte halm is dus belangrik. (b) Die are toon 'n definitiewe voedingsbehoefte en 'n 20% voedingsoplossing was die beste van die oplossings wat getoets is. Die voedingsoplossing moet verkieslik weekliks vervang word wanneer are teruggeknip word. Op die tydstip behoort die houters met 'n steriliseringsmiddel gewas te word vir die verwydering van enige moontlike swamgroeï aan die houters se wande. (c) Jik was die beter steriliseringsmiddel en het teen 0.05% toediening goeie swaminhibering bewerkstellig. (d) Hormone is nie in die roetinetoeëpassing gebruik nie aangesien die voordeel hiervan nie die ekstra insette regverdig nie.

Verskillende strategieë is aangewend vir die seleksie van manlike en vroulike plante. Met die aanvang van die herhalende seleksieprogram in 1998 is 'n totaal van 1881 plante getoets vir roesweerstand en 597 geselekteer as bronmateriaal vir 1999. In totaal is 158 manlik-steriele en 188 manlik-vruggbare are gebruik in die bestuiwersisteem vir die verkryging van die 1999 vroulike komponent. 'n Totaal van 3410 sade is verkry met 'n 63.47% saadset. Tesame met 157 F<sub>2</sub>:96K109 landgeselekteerde plante is 44 seleksies vanuit 'n stamboom seleksieprogram gebruik as manlike komponent in 1999. Gedurende 1999 is 9564 plante getoets vir roesweerstand en 3230 geselekteer en geplant. Weereens het landseleksie plaasgevind. Die 157 seleksies is onderwerp aan miksograaf-toetsing. Vierhonderd agt- en -veertig manlik-steriele en 1020 manlik-vruggbare are is gebruik in die bestuiwersisteem. Ongeveer 12138 sade is geoes, teen 'n 75% saadset. Gedurende 2000 is die sade asook 64 seleksies uit 'n stamboom seleksieprogram aangewend as die manlike komponent. Roestoetsing is weereens in 2000 uitgevoer en 6465 plante is geïnkuleer waaruit 2832 plante geselekteer en geplant is. Die bestuiwersisteem is aangepas vir die hantering van groter aantalle are tydens 2000 en in totaal is 878 manlik-steriele are en 'n 1016 manlik-vruggbare are gebruik vir kruisbestuiwing. Die saadset is verhoog na 81.7% en 25380 sade is verkry.

Om die hoeveelheid variasie binne die populasie te bepaal, is miksograaftoetsing op die 1999 F<sub>2</sub>-populasie uitgevoer. Die data het aangetoon dat groot hoeveelhede genetiese variasie beskikbaar is binne die populasie. Roestoetsing van die 1999- en 2000-bestuiwerpopulasies is ook uitgevoer om 'n indikasie te verkry van die verspreiding van weerstand teen blaar- en stamroes. Die blaarroes het 'n relatief lae vlak van weerstand getoon ( $\pm 50\%$ ) terwyl die stamroesweerstand baie hoë vlakke gehandhaaf het.

*Ms3* kan dus gebruik word om in kombinasie met waterkultuurkweking van gesnyde halms, 'n herhalende seleksieprogram van stapel te stuur. Integrasie met 'n bestaande stamboom seleksieprogram is ook moontlik en sal relatief min addisionele insette vereis. 'n Gedeelte van die werk is reeds gepubliseer en word hierby aangeheg as Aanhangsel D.



## ABSTRACT

In cross pollinated crops, recurrent selection is used to increase the frequency of desirable alleles by breaking up existing linkage blocks and forming new gene combinations. Despite promising results from numerous feasibility studies, recurrent selection is seldom routinely used in wheat. A major obstacle has been the inability to readily achieve random interbreeding of large numbers of selected plants. In China the Taigu genetic male sterility gene, *Ms2*, has however been used to establish a recurrent selection programme in which field grown male sterile plants were pollinated by selected male fertile plants (Huang *et al.*, 1988).

Another dominant gene for male sterility, *Ms3*, was found after EMS treatment of the seeds of an alloplasmic common wheat with *Triticum tauschii* cytoplasm (Maan *et al.*, 1984) and is located at 3 map units from the centromere on chromosome arm 5AS (Maan *et al.*, 1987). In a study done during 1999 at Welgevallen to determine the frequency of natural intercrossing under field conditions, *Ms3* showed incomplete penetrance and only about two thirds of the seed set on male sterile plants could be attributed to intercrossing. *Ms3* has stable expression in plants grown within the normal range of greenhouse temperatures for wheat, 16 - 25°C. Under warmer field conditions, 21 - 35°C, its penetrance is, however, incomplete (Maan *et al.*, 1984). The utility of *Ms3* under field conditions is therefore unsatisfactory.

An attempt to determine the location and origin of an unknown male sterility gene, found in cross 95K3 of a routine breeding programme, showed that a single locus was not the cause of the male sterility. Chromosome abnormalities and gene imbalances were probably to blame. The male sterility probably relates to a *T.urartu* addition chromosome in the pedigree of cross 95K3.

To facilitate the production of large numbers of hybrid progeny, a simple hydroponic system was developed in which male sterile tillers cut at the flowering stage can be pollinated and maintained for about 8 weeks, long enough to produce viable seeds. For pollination, florets on male tillers are cut open and placed in a container with a similar number of pollen shedding male tillers.

It was found that cut tillers could be maintained in the hydroponic system as long as certain precautions were met: (a) The tillers must be handled with care so as not to damage the flag leaf which must be maintained for as long as period possible. (b) The tillers have a nutrient requirement and a 20% solution showed the best results of the nutrient solutions tested. (c) The sterilizing effect of Jik at 0.05% gave excellent fungal control en helped to sustain the



nutrient solution. (d) Although the treatment of tillers with hormones improved seed quality, it was not justified by the additional inputs required.

Different selection strategies were used for male and female plants. At the onset of the recurrent selection programme in 1998, a total of 1881 plants were tested for seedling resistance and 597 plants were selected for use as parents and source material for 1999. In total 158 male sterile and 188 male fertile ears were used in the hydroponic pollination and a 63.47% seed set was obtained, resulting in 3410 seeds, forming the 1999 female component. One hundred and fifty seven F<sub>2</sub>:96K109 plants were selected from a field grown population in 1998. These, together with 44 selections from a pedigree programme, formed the male component for 1999. In total 9564 plants were tested for seedling resistance during 1999. A total of 3230 resistant seedling were selected and planted. Again male fertile plants from the previous season were field planted and selected. The selected plants were subjected to mixograph testing. A total of 448 male sterile and 1020 male fertile ears were used for hydroponic pollination. Approximately 12000 seeds were harvested, the seed set being around 75%. The 157 F<sub>2</sub>:96K109 field selected plants (1999) and 64 selections from a pedigree programme formed the male component for 2000. Seedling resistance testing during 2000 included a total of 6465 plants and 2832 were selected and planted. The hydroponic system was improved during 2000 with new, larger capacity containers being used which improved cross pollination. In total 878 male sterile tillers and 1016 male fertile tillers were cut and intercrossed. In total 25380 seeds were harvested, the seed set being 81.7%.

In an attempt to determine the amount of variation within the 157 F<sub>2</sub>-families selected during 1999, mixograph testing was performed. The data showed variation among families. Seedling resistance testing for leaf and stem rust was performed on the 1999 and 2000 F<sub>1</sub>s to determine the variation for resistance within the populations. Both populations showed high level of stem rust resistance but lower levels of leaf rust resistance ( $\pm 50\%$ ).

*Ms3* can thus be used in combination with hydroponic tiller culture to facilitate recurrent selection. Integration with an existing pedigree selection programme is viable and requires little additional input. Some of these results have already been published (Addendum D).



## **Aan my Moeder**

## BEDANKINGS

Hiermee wil ek graag my dank uitspreek teenoor die volgende individue en organisasies:

- ☞ Prof. G.F. Marais, studieleier, vir sy leiding, ondersteuning en deurgaanse opbouende kritiek
- ☞ Dr. J.H. Louw, mede-studieleier, vir sy waardevolle insette tydens nasien van die tesis
- ☞ Mev. A.S. Marais en Mnre. Herman Roux, Stanley Pretorius en Charles Toutie vir hul bydra tot die projek
- ☞ Die Wintergraan Navorsingstrust en Stigting vir Navorsingsontwikkeling (SNO) vir befondsing
- ☞ Die USDA-ARS departement van Akkerbou, Staatsuniversiteit van Kansas, vir die beskikbaarstelling van die *Ms3* bronmateriaal
- ☞ Prof. Z.A. Pretorius, Departement van Plantpatologie U.V.S., vir die verskaffing van blaar- en stamroespatotipes
- ☞ Mnr. W. Boshof, Kleingraaninstituut te Bethlehem, vir die verskaffing van geelroespatotipes
- ☞ My Pa en broer vir hul stille ondersteuning en begrip
- ☞ Annelise Blignaut vir haar liefde en geduld ten alle tye



## LYS VAN AFKORTINGS

2,4-D	“Dichlorophenoxyzcetic acid”
μM	Mikromolaar
μm	Mikrometer
ANOVA	Analise van variansie
B	Blokke
BP	Betekenis peil
bv.	Byvoorbeeld
CHM	Chemiese hibridiserings middel
cm	Sentimeter
CMS	Chemies-geïnduseerde manlike steriliteit
CS	Chinese Spring
cv.	Kultivar
Dicamba	“3,6-Dichloro-organisms-anisic acid”
d.k.m.	Duisend-korrel-massa/1000-korrel-massa
d.p.m.	Dele per miljoen
ens.	Ensovoorts
E	Omgewing/lokaliteit
EMS	Elektromagnetiese straling
Fig.	Figuur
<i>fst</i>	Vroulike onvrugbaarheid
G	Genotipe
GA <sub>3</sub>	“Gibberellic acid”
GE	Genotipe-omgewing interaksie
GK	Gemiddelde kwadrate
GLM	“General Linear Model”
GMS	Genetiese manlike steriliteit
GSB	Geïntegreerde siektebestuur
$h^2$	Oorerflikheid
h	Uur
ha	Hektaar
HIV	Hoë-intensiteit-vrystellings-lampe
HR	Hipersensitiwiteits-reaksie

kg	Kilogram
KKL	Kwantitatiewe kenmerk loci
l	Liter
m	Meter
MBS	Merker bemiddelde seleksie
MGIS	Merker gebaseerde indeks seleksie
MH	“Maleiee hydrazide”
ml	Milliliter
mm	Millimeter
Mg	Milligram
<i>mft</i>	Vroulike sterliteit
<i>mst</i>	Manlike sterliteit
°C	Grade Celcius
pH	Pikohenry
PKR	Polimerase ketting-reaksie
RAPD	“Randomly Amplified Polymorphic DNA”
RH	Relatiewe humiditeit
RIL	Rekombinante ingeteelde lyne
SAS	“Statistical Analysis System”
sek.	Sekonde
SCAR	“Sequence Characterized Amplified Region”
SMS	Sitoplasmiese manlike sterliteit
sf.	Standaardfout
S	Standaard
v.C	voor Christus
vg	Vryheidsgrade
V <sub>E</sub>	Omgewings variansie
V <sub>G</sub>	Genotipiese variansie
V <sub>P</sub>	Fenotipiese variansie
VH	Verdubbelde haploïed



## INHOUDSOPGAWE

### Hoofstuk 1: Literatuuroorsig

<b>1. Die Koringplant</b>	<b>1</b>
1.1. Oorsprong	1
1.2. Verspreiding	2
1.3. Morfologie	2
<b>2. Waterkulture</b>	<b>3</b>
2.1. Tegniek	4
2.2. Voedingsmengsels	4
2.3. Bestuur van 'n waterkultuur-sisteem	6
2.3.1 Voeding	6
2.3.2 pH	7
2.3.3 Belugting	7
2.3.4 Beligting	7
<b>3. Manlike steriliteit</b>	<b>8</b>
3.1. Nie-genetiese manlike steriliteit	9
3.1.1 Chemies-geïnduseerde manlike steriliteit	10
3.2. Sitoplasmiese manlike steriliteit	12
3.3. Genetiese manlike steriliteit	13
3.3.1 Manlike steriliteits-gene	13
3.3.2 Aanwending van manlike steriliteit	15
<b>4. Koring-roessiektes</b>	<b>16</b>
4.1. Die patogene	16
4.1.1 Geelroes	17
4.1.2 Blaarroes	17
4.1.3 Stamroes	18
4.2. Lewenssiklus	20
4.3. Verspreiding	20
4.4. Beheer van roessiektes	21
4.4.1 Chemiese beheer	21
4.4.2 Verbouings-praktyke	22
4.4.3 Genetiese beheer	22
4.4.4 Geïntegreerde siekte-bestuur	23
4.5. Die gasheer-patogeen-interaksie	23
4.5.1 Gasheerspesifisiteit	23
4.5.2 Hipersensitiwiteits-reaksie	24
<b>5. Seleksie metodes</b>	<b>26</b>
5.1. Genotipe-omgewing interaksie	27
5.1.1 Omgewing	27
5.1.2 Genotipe	27
5.1.3 Analise van GE interaksie	28

5.1.4	Implikasies vir planteteelt	29
5.2.	Konvensionele seleksie tegnieke	30
5.2.1	Komposiet kruisings	30
5.2.2	Herhalende seleksie	31
5.3.	Faktore wat kruisbestuiwing beïnvloed	32
5.3.1	Blom funksionaliteit en struktuur	32
5.3.2	Effek van afstand	33
5.3.3	Effek van planthoogte	33
5.4.	Kwaliteitstoetsing	34
5.5.	Nie-konvensionele seleksie tegnieke	34
5.5.1	Verdubbelde haploïede	35
5.5.2	Merker bemiddelde seleksie	37
5.5.3	Biotegnologie	40
6.	<b>Doelwitte van studie</b>	<b>41</b>

## Hoofstuk 2: Materiaal en metodes

1.	<b>Optimisering van waterkulture</b>	<b>42</b>
1.1.	Eksperiment 1	44
1.2.	Eksperiment 2	45
1.3.	Eksperiment 3	46
1.4.	Eksperiment 4	47
1.5.	Eksperiment 5	48
2.	<b>Ondersoek na genetiese manlike steriliteit</b>	<b>49</b>
2.1.	Aanwending van 'n dominante geen vir manlike steriliteit, <i>Ms3</i>	49
2.1.1	Oorsprong en inkorporering	49
2.1.2	Ondersoek na die frekwensie kruisbestuiwing onder landtoestande	50
2.2.	Bepaling van die chromosoomligging van 'n onbekende, dominante geen vir manlike steriliteit	50
3.	<b>Implementering van 'n praktiese werkswyse vir die uitvoer van 'n roetine herhalende seleksieprogram met koring</b>	<b>52</b>
3.1.	Roetine bestuiwing (in waterkulture) van groot getalle manlik-steriele halms met manlik-vrugbare halms	52
3.2.	Benutting van manlike steriliteit in herhalende seleksie	53
3.3.	Verbreiding van die genetiese basis van die uitgangspopulasie	56
3.4.	Ramings van die genetiese diversiteit binne die uitgangspopulasie op verskillende stadia in die ontwikkeling daarvan	58
4.	<b>Roespatotipes</b>	<b>58</b>
5.	<b>Inokulasies</b>	<b>59</b>
6.	<b>Kwaliteitstoetsing</b>	<b>61</b>
6.1.	Meelblomekstraksie	61
6.2.	Miksograaftoetsing	62



## Hoofstuk 3: Resultate en bespreking

<b>1. Aaroorlewingseksperimente</b>	<b>64</b>
1.1. Eksperiment 1	64
1.2. Eksperiment 2	66
1.3. Eksperiment 3	68
1.4. Eksperiment 4	70
1.5. Eksperiment 5	72
<b>2. Onderzoek na genetiese manlike steriliteit</b>	<b>74</b>
2.1. Onderzoek na die frekwensie kruisbestuiwing onder landtoestande vir <i>Ms3</i>	74
2.2. Bepaling van chromosoomligging van 'n onbekende, dominante geen vir manlike steriliteit	77
<b>3. Implementering van 'n praktiese werkswyse vir die uitvoer van 'n roetine herhalende seleksieprogram met koring</b>	<b>84</b>
3.1. Roetine bestuiwing (in waterkulture) van groot getalle manlik-steriele halms met manlik-vrugbare halms	84
3.2. Benutting van manlike steriliteit in herhalende seleksie	84
3.3. Verbreding van die genetiese basis van die uitgangspopulasie	86
3.4. Ramings van die genetiese diversiteit binne die uitgangspopulasie op verskillende stadia in die ontwikkeling daarvan	93
3.4.1 Evaluasie van die 1999 landaanplanting	93
3.4.2 Evaluasie van $F_1$ -populasies: 1999 en 2000	102
<b>4. Samevatting</b>	<b>104</b>
<b>Verwysings</b>	<b>107</b>
<b>Aanhangsel A: Stambome van 60 <math>F_1</math>-lyne (streeproes bestand) wat as manlike ouers benut is vir die bestuiwing van manlik steriele <math>F_1</math> plante uit die kruising 95M186 (streeproes vatbaar)</b>	<b>113</b>
<b>Aanhangsel B: Lys van 44 enkelplant seleksies met voortreflike agrotipes en siekteweerstand soos geselekteer uit 'n stamboom seleksie program (1999-seisoen)</b>	<b>115</b>
<b>Aanhangsel C: Lys van 64 enkelplant seleksies met voortreflike agrotipes en siekteweerstand soos geselekteer uit 'n stamboom seleksie program (2000-seisoen)</b>	<b>117</b>
<b>Aanhangsel D: Artikel soos gepubliseer in Plant Breeding 119, 440 - 442 (2000)</b>	<b>119</b>

## Hoofstuk 1: Literatuuroorsig

### 1. Die Koringplant

Daar is nie absolute sekerheid omtrent die herkoms van koring nie. Dit is egter duidelik dat die gewas in die Tigrus-Eufraat Vallei in die Midde-Ooste uit verskillende wilde grasse geëvolueer het. Bewyse is gevind dat koring reeds so vroeg as 15000 - 10000 v.C. deur die mens verbou is (Quisenberry *et al.*, 1967).

#### 1.1. Oorsprong

Die koringplant is 'n lid van die gras familie *Gramineae*, genus *Triticum*. Die genus omvat spesies met chromosoomgetalle 14, 28 en 42, die basiese chromosoomgetal is dus 7 (Nelson, 1973). Die genus *Triticum* is 'n klassieke voorbeeld van die evolusie van spesies deur middel van amfiploïdie (Miller, 1987). Die meeste spesies binne die genus *Triticum* is wel op een of ander stadium verbou, maar huidig word produksie hoofsaaklik gekonsentreer op *T.aestivum* en *T.durum*.

Broodkoring (*T.aestivum*) is 'n heksaploïed ( $2n = 42$ ) met genome AABBDD en het evolusionêr ontstaan na die verbastering van die tetraploïed, *T. dicoccum* ( $2n = 28 = AABB$ ) en die diploïed, *T. tauschii* ( $2n = 14 = DD$ ). Gebaseer op genoom-analises kon die oorsprong van die A- en D-genome bepaal word, soos aangetoon in Fig. 1.1. Die donor van die B-genoom is egter onbekend en kon reeds uitgesterf het. Durumkoring (*T.durum*) is 'n tetraploïed met  $2n = 28$  chromosome (genome AABB) en word algemeen gebruik vir die vervaardiging van pastaprojekte (Nelson, 1973; Kimber *et al.*, 1987).

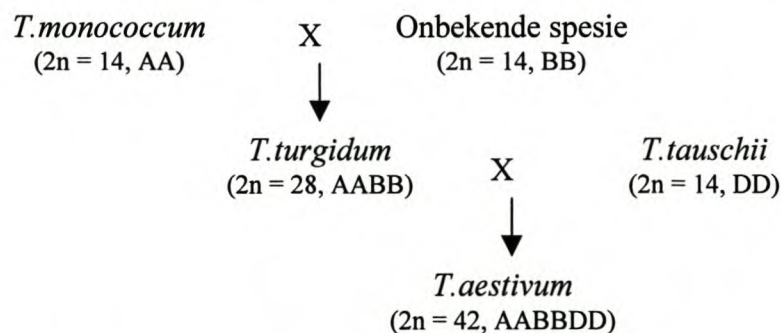


Fig. 1.1: Die evolusionêre oorsprong van *T.aestivum* (Knott, 1989)



## 1.2. Verspreiding

Beide lente- en winterkorings word in Suid-Afrika verbou. Lentekoring word gewoonlik geplant in areas met 'n gematigde winter. Winterkoring het 'n vernalisasie behoefte en word gewoonlik in streke geplant wat baie koue winters het (Trench, 1992).

In Suid-Afrika word koring meesal onder droëland kondisies verbou. Die Wes-Kaap met sy Mediterreense klimaatstipe het 'n hoë winterreënval in teenstelling met die noordelike produksiegebiede van Suid-Afrika wat 'n somerreënval het met gepaardgaande droë, koue winters en meesal word winterkorings hier aangeplant. Lentekoring word ook onder besproeiing verbou in sommige dele, maar die grootste bydrae tot die jaarlikse oes is vanaf droëland verbouing (Scott, 1990).

## 1.3. Morfologie

Die morfologie van verskillende koringspesies en -kultivars varieer grootliks. Die enigste konstante is dat hulle eenjarige is (Briggle, 1980).

Die koringplant het 2 stelle wortels, naamlik seminale en adventiewe wortels. Die seminale wortels word net na ontkieming gevorm en word later deur die permanente, adventiewe, wortels vervang. Die adventiewe wortels vorm 'n vertakte netwerk wat 15 – 23cm lateraal kan versprei en so diep as 1m kan groei. Hoewel die voedingsbehoefte van die ontkiemende plant aanvanklik deur die endosperm bevredig word, neem die seminale wortels gou oor en absorbeer water en voedingstowwe uit die grond. Na ongeveer 2 weke begin die adventiewe wortels ontwikkel, maar speel geen noemenswaardige rol tot voor groeistadiums 6 – 10 nie (Briggle, 1967).

Die stam is normaalweg hol met 6 nodes en internodes en besit die laagste vlak van spesialisasie van al die plantdele. Die doel van die stam is meesal slegs om blare en wortels te verbind. Verdere funksies sluit in om as vervoerstelsel op te tree vir voedingstowwe vanaf die wortels na die blare. Die hoogte en sterkte van die stam is 2 belangrike agnomiese kenmerke (Briggle, 1967).

Die plant se blare is die hoof vervaardiger van voedingstowwe, met fotosintese wat hier geskied. In die aanwesigheid van lig word CO<sub>2</sub> uit die atmosfeer geabsorbeer en saam met



water binne die blaar omvorm tot suikers. Die chlorofiel binne die blaar is verantwoordelik vir die proses (Briggle, 1967).

Die hele bloeiwyse op 'n halm is die aar. Die aar is opgedeel in verskillende blompakkies met individuele blommetjies. Aar van *T.aestivum* wissel in lengte van 5 - 15cm en in dikte van 1 - 3cm. Elke blompakkie bestaan uit gemiddeld 3 blommetjies. Die blommetjie word omsluit deur die kroonkaffies. Die kroonkaffies bedek die 3 meeldrade en enkele vrugbeginsel bestaande uit die styl en stempel (Briggle, 1980).

'n Koring-pit bestaan uit die endosperm en embrio. Die endosperm en embrio word omluit deur die testa en perikarp. Die endosperm bestaan uit voedingstowwe vir die ontkiemende plantjie, terwyl die embrio slegs 2 - 3% van totale pit-gewig uitmaak. Tydens vermalings word die testa, perikarp en embrio van die endosperm geskei. Die fyn gemaalde endosperm word die meel en die res vorm die semels (Briggle, 1967).

## 2. Waterkulture

Waterkulture dateer terug tot die "Hangende tuine van Babilon". Die tegniek van waterkultuurkweeking is egter eers in die laat 1920's verfyn tot 'n kommersieel lewensvatbare alternatief vir organiese boerdery. 'n Kaliforniër, Prof. W.F. Gericke, was hiervoor verantwoordelik en het sy tegniek gegrond op werk gedoen deur twee Duitse wetenskaplikes, Sachs en Knop. Sy navorsing het veral gehandel oor die voedingsbehoeftes van plante en die optimisering van chemiese voedingsmengsels. Verdere ontwikkeling het deurlopend plaasgevind gedurende die 1930's en 1940's (Harris, 1987).

Gedurende die Tweede Wêreldoorlog het waterkulture 'n prominente rol gespeel in voedselverskaffing vir die Geallieerde magte gesetel in die onvrugbare Pasifiese eilande, en is kommersiële waterkultuur verbouingspraktyke geweldig ontwikkel. Gedurende die 1950's is waterkultuur boerdery reeds op groot skaal in Amerika, Brittanje, Europa en Asië beoefen. Vandag word waterkulture wêreldwyd suksesvol aangewend om groente, blomme, vrugte en kruie te verbou (Harris, 1987).



## 2.1. Tegniek

Waterkulture behels in wese die kweek van plante sonder grond en direk in 'n voedingoplossing. 'n Groeimedium word slegs ingesluit as ondersteuning vir die wortels en om vog te stoor rondom die wortels. Die groeimedium is dus inert (Harris, 1987).

Bykans enige gewas kan met behulp van waterkulture gekweek word. Die koste hieraan verbonde maak egter die tegniek meer geskik vir hoër opbrengs gewasse soos tamaties. Die opbrengs is normaalweg baie hoër met waterkulture as vir organiese gekweekte gewasse en die plante groei ook baie vinniger. Die kwaliteit is normaalweg beter en die smaak dieselfde as die van organies gekweekte gewasse (Harris, 1987).

## 2.2. Voedingsmengsels

Die mineraal-elemente wat noodsaaklik is vir die groei en ontwikkeling van plante word onderverdeel in makro- en mikro-elemente op grond van die hoeveelhede waarin hulle benodig word. Makro-elemente sluit N, P, Ca, Mg, S en K in. Mikro-elemente sluit onder andere Fe, Mn, Zn, Cu, Br en Mo in. Plante verwyder sekere elemente by voorkeur uit die voedingsmedium waarin dit geplant word. Die blare gee die beste aanduiding van 'n plant se voedingsbehoefte. Die makro- en mikro-elemente wat essensieel vir die koringplant is kan in 3 kategorieë opgedeel word volgens hul tempo van opname (Bugbee, 1996).

Groep 1 elemente word vinnig geabsorbeer en word normaalweg binne ure uit die voedingsmedium opgeneem. Die voedingstowwe sluit  $\text{NO}_3$ ,  $\text{NH}_4$ , P, K en Mn in. Groep 2 elemente het 'n intermediêre opname en word net vinniger as water opgeneem. Die groep 2 elemente sluit Mg, S, Fe, Zn, Cu, Mo en C in. Die groep 3 elemente word passief geabsorbeer vanuit die voedingsmedium en bly gewoonlik in die voedingsmedium agter. Groep 3 elemente sluit Ca en B in (Bugbee, 1996).

Veral jong plante ontwikkel mineraaltekorte, maar is normaalweg hoogs verdraagsaam vir mineraal-oormate. Die onderskeie makro- en mikro-elemente is almal belangrik, maar vir die doel van waterkulture is veral N, P, Mg, Ca en K van belang. By waterkulture is die N-behoefte baie hoog, net soos by organies-verboude koring, maar die probleem van toediening is egter groter. Die omset van N in waterkultuur-verboude koring is ongeveer dieselfde as die van al die ander elemente saam. Deurlopende toevoeging is dus belangrik. Wanneer koring



organies verbou word, bied N probleme a.g.v. die gedrag daarvan in grond en die spesifieke invloed daarvan op die opname van ander elemente. Die N-behoefte is ook aanwesig tydens die totale leeftyd van die plant. In waterkulture beïnvloed N-toevoegings die pH en die doeltreffendste vorms van N, naamlik  $\text{HNO}_3$  en  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , verhoed ook die opname van katione. Opname van die meeste elemente word deur die plant self gereguleer, maar by koring is die N-absorpsie ongereguleerd, en word dit slegs beïnvloed deur die beskikbaarheid van N. Wanvoeding en N-oortoediening kan plantgroei negatief beïnvloed. Oormatige N-opname het ongekontroleerde vegetatiewe groei tot gevolg, verswakte siektebestandheid en onder-ontwikkelde are (Bugbee, 1996).

Grasse het nie sulke hoë Ca-behoeftes as tweesaadlobbiges nie. By organies-verboude koring het Ca 'n tweeledige rol. Dit tree op as grond-bindings-agent en stabiliseer ook die pH. Ca is nie maklik toksies vir plante nie, maar speel wel 'n rol by plantvoeding. Ca-tekorte kom selde in koring voor en simptome sluit in dat jonger blare begin vergeel en verdroog (Bugbee, 1996).

Mg is 'n hoogs mobiele element en maak deel uit van die chlorofiel. Dit is ook betrokke by die absorpsie van P, translokasie daarvan na sade en sintese van lipiede. Mg-tekorte verskyn gewoonlik eerste in die oudste plantdele. Die blare verloor hul groen kleur, krul op en vrek. Toksiene vlakke kom soms in waterkulture voor en manifesteer dan in die vlagblaar (Bugbee, 1996).

P en K word albei uit die voedingsoplossing geabsorbeer en oortoediening is dus 'n wesenlike gevaar. Baie klein hoeveelhede word benodig. Die teendeel is egter dat wanneer die simptome van P- en K-tekorte begin manifesteer die skade reeds onherroeplik is. Fe-vlakke is moeilik om te handhaaf, maar die beskikbaarheid van moderne chilerings-middels het dit egter vergemaklik. Zn en Cu is twee alomteenwoordige elemente wat as kontaminante gesien kan word. Die Zn en Cu is meesal afkomstig vanaf houers en pype aangewend vir waterkulture. Moderne plastiekhouders wat uit PVC bestaan skakel die probleem egter grootliks uit. Boor en silikoon is 2 elemente wat normaalweg afgeskeep word. Die boor-behoefte van gras is minimaal. Silikoon is 'n erg onderskatte element. Hoewel silikoon nie 'n essensiële voedingstof vir hoër plante nie, is die voordelige effek reeds goed bekend vir verskeie gewasse. Silikoon is algemeen beskikbaar vir organies verboude gewasse, maar is normaalweg afwesig in waterkultuur voedingsoplossings. Die effek van silikoon is tweeledig, eerstens beskerm dit plante teen siekteplae en tweedens teen toksiese metale (Bugbee, 1996).



### 2.3. Bestuur van 'n waterkultuur-sisteem

Die konsentrasie ione in 'n voedingsoplossing is belangrik, maar wissel gewoonlik deurentyd. Voortdurende vervanging en aanvulling van die voedingsmedium is dus belangrik. Die verhouding van transpirasie tot groei bepaal die konsentrasie van ione in plantweefsels, transpirasie verteenwoordig die tempo van water-verwydering en groei die tempo waarteen ioon/nutriënt verwydering plaasvind. Die transpirasie tot groei verhouding vir koring is 300 – 400kg water vir elke 1kg droëmassa plantgroei behaal. Die presiese verhouding word egter sterk geaffekteer deur die humiditeit van die omringende omgewing. Lae humiditeit verhoog transpirasie, maar verhoog nie plantgroei nie. Verhoogde CO<sub>2</sub>-vlakke sluit stomata en verhoog fotosintese sodat die transpirasie tot groei verhouding kan afneem na nagenoeg 200:1 (Harris, 1987).

#### 2.3.1 Voeding

Die gereeldheid waarmee voedingselemente aangevul en verplaas word, is kardinaal vir voedingsbestuur. Omdat voedingstowwe wat onderworpe is aan aktiewe opname binne etlike ure uit die voedingsmedium verwyder word, beskou sommige dit as noodsaaklik om sulke voedingstowwe outomaties en voortdurend te vervang. Voortdurende byvoeging en vervanging is egter onnodig. Die voedingsstowwe wat vinnig geabsorbeer word vanuit die voedingsoplossing is mobiel in plante. Dit beteken die plante kan sulke voedingstowwe in die wortels, stamme of blare hermobiliseer soos dit nodig is. Bugbee (1996) het studies onderneem met koring waartydens hulle N-byvoegings elke 48h gedoen het. Die plante se groei was identies aan die van die kontroles waar N nooit toegelaat is om volkome uit oplossing geabsorbeer te word nie. Studies deur Bugbee (1996) waar oormatige N ingesluit is in die begin-oplossing het egter meer konkrete gevolge gehad. Die N is geabsorbeer tot nagenoeg 20µM 16 dae na saai. Die plante het egter steeds oorgenoeg N in die blare gehad op dag 23. Vergelykbare plante wat konstante N-toediening ontvang het, se droëmassa was hoër. In die geval was geassimileerde N dus nie so effektief as vars-geabsorbeerde N om groei te onderhou nie.



### 2.3.2 pH

Die korrekte pH is noodsaaklik vir optimale plantgroei. Plante groei egter ewe goed by pH 4 as by pH 7, mits die elemente beskikbaar bly. Die rede blyk te wees dat die direkte effek van pH op wortelgroei gering is, maar dat dit wel die assimilasië van voedingstowwe beïnvloed. Die aanbevole pH vir waterkulture is tussen 5.5 en 5.8 omdat die algemene assimilasië vinnig geskied onder effense suur toestande. Die beskikbaarheid van Mn, Cu, Zn en veral Fe is swak by hoër pH's (Harris, 1987).

Ongelukkig is waterkulture berug vir hul swak pH-buffering. P-verbindings ( $\text{H}_2\text{PO}_4$  en  $\text{HPO}_4$ ) is die pH-buffer van voorkeur maar as dit teen vlakke gebruik word wat hoog genoeg is om optimale buffering te kry, is dit toksies vir plantgroei (Bugbee, 1996).

Tydens proewe het Bugbee (1996) 'n pH van 4 probeer handhaaf, omdat bikarbonate in oplossing geëlimineer kan word by hierdie pH. Groei by pH 4 is toe vergelyk met groei by pH 5.8 en geen klinkklare bewyse kon verkry word dat die hoër pH enigszins voordelig of nadelig was nie. Dit blyk dat pH 4 en laer oor die lang termyn wortelgroei inhibeer. Gedurende proewe het Bugbee (1996) weens tegniese probleme 'n pH van 2 gehandhaaf vir 48 h. Wortels het verbruin en afgesterf, maar die plante het binne 14 dae volledig herstel.

### 2.3.3 Belugting

Belugting van die voedingmedium is normaalweg onvoldoende weens swak vloeiempoos en dit lei dan tot suurstoftekort in die wortels. Dit veroorsaak wortelstres en kan aanleiding gee tot versmoring en hoër vatbaarheid vir siektes. Hoewel suurstof as 'n spoorelement beskou word, het 'n tekort betekenisvolle effekte en moet korrekte konsentrasies ten alle tye gehandhaaf word (Bugbee, 1996).

### 2.3.4 Beligting

Beligting by waterkulture is belangrik en soveel te meer wanneer die sisteem staatmaak op kunsmatige beligting. Verskeie ligbronne is beskikbaar maar sonlig is die effektiëfste. Gewone fluoresserende ligte, gloeilampe en hoë-intensiteit-vrystellings-lampe (HIV) kan ook gebruik word. Met gebruik van kunsmatige lig is dit belangrik om die totale ligspektrum te



verskaf. Vir optimum blom en bestuiwing is geel- tot oranje-kleurige lig beter. Blou tot wit lig bevorder weer vegetatiewe groei. HIV-lampe wen kommersieel toenemend veld. Die rede is die beter ligintensiteit en wyer ligspektrum teen 'n laer lopende koste. Die nag/dag-periode wissel in belangrikheid volgens die gewas betrokke. Dag-neutrale, lang-dag en kort-dag plante is die drie kategorieë waarvolgens beligtings-behoeftes geklassifiseer word. Dag-neutrale plante word nie wesenlik geaffekteer deur die dag/nag wisseling nie, maar het gewoonlik beter opbrengs by 15 – 18h lig en 9 – 6h donkerte. Lang-dag plante benodig 'n 16 – 18h lig en 6 - 8h donkerperiode per dag. Kort-dag plante benodig 12h nag om blomvorming aan te moedig. Indien enige onderbreking voorkom sal oneweredige en vertraagde groei en/of vrugvorming voorkom (Atherton, 1987).

### 3. Manlike steriliteit

Telings-metodes moet voortdurend vernuwe en uitgebrei word vir die skep van steeds beter kultivars. Hedendaagse telers wend hulself nie meer net tot konvensionele telingsmetodes nie, maar leen ook uit die nie-konvensionele tegnieke om telingsprogramme aan te vul. Koring as selfbestuiwende gewas het verskeie beperkings en daarom gebruik telers onder meer manlike steriliteit as gereedskap in die verbetering van die gewas. Sitoplasmiese manlike steriliteit (SMS) en die gebruik daarvan kan sover as die 1940's terug gespoor word. Die waarde van manlike steriliteit as 'n hulpmiddel spruit uit die feit dat koring 'n selfbestuiwende gewas is en moeilik verbaster. Manlike steriliteit maak dit moontlik om kruisings tussen koringplante te doen sonder tydrawende ontmannings (Johnson *et al.*, 1987).

Herhalende seleksie in kruisbestuiwers verhoog die frekwensie van gesogte allele in 'n populasie terwyl die genetiese veranderlikheid langer behoue bly. Terselfdertyd verhoog dit geleenthede vir rekombinasie en die skep van meer voordelige geen kombinasies. Hoewel herhalende seleksie dus groot voordele inhou is die roetine gebruik daarvan in 'n selfbestuiwer soos koring baie beperk. Die aanwending van manlike steriliteitsgene kan die herhalende seleksie proses vergemaklik, maar die produksie van groot hoeveelhede saad deur lukraak onderlinge kruisings word egter beperk deur oneffektiewe kruisbestuiwing (Johnson *et al.*, 1987).

Manlike steriliteit kan gedefinieer word as die onvermoë van 'n plant om funksionele stuifmeel vry te stel. Alhoewel manlike steriliteit dikwels toegeskryf kan word aan



omgewingsfaktore, het dit soms 'n genetiese basis en is dit ook moontlik om dit te induseer met gebruik van chemiese middels (Kihara *et al.*, 1964).

Manlike steriliteit en die aanwending daarvan in herhalende seleksie van selfbestuiwende gewasse is reeds wyd in gebruik. Die Chinese het reeds belowende resultate behaal met die dominante "Taigu"-geen vir manlike steriliteit, *Ms2*. Genetiese manlike steriliteit word gewoonlik deur terugkruising geïnkorporeer in 'n reeds beproefde genotipe. Dié word dan bevrug met 'n reeks verskillende lyne en die nageslag onderwerp aan herhalende, onderlinge kruising. Die segregerende nageslag sal gewoonlik 'n proporsie manlik-steriele plante insluit en so dus manlike steriliteit vestig. As die manlike steriliteits-geen resessief is sal dit manifesteer in die  $F_2$ -generasie, indien dominant, reeds gedurende die  $F_1$ -generasie. Die steriele plante kan lukraak bevrug word met vrugbare genotipes in die geselekteerde groep (<sup>a</sup>Huang *et al.*, 1993).

### 3.1. Nie-genetiese manlike steriliteit

Sekere chemiese en temperatuur behandelings, asook 'n koper-tekort kan lei tot manlike steriliteit by koring. Koper-tekorte in die grond kan lei tot verdwergde- en miniatuur-helmknoppe met abortiewe, onvrugbare stuifmeel. In gevalle waar koper afwesig blyk te wees, sal geen blomvorming hoegenaamd plaasvind nie. Saad-ontwikkeling is dan grootliks ingekort en tot soveel as 66% van die opbrengs kan verlore gaan. Dié tipe geïnduseerde steriliteit het dus geen toepassingswaarde nie (Chopra *et al.*, 1960).

Temperatuur-behandeling kan ook lei tot manlike steriliteit (*mst*). Koring is 'n koel seisoen gewas en indien dit blootgestel word aan 'n hoë temperatuur tydens sporogenese, kan die gamete vernietig word. Saini *et al.* (1982) het *T.aestivum* cv. *Gabo* vir 3 dae aan 30°C tydens meiose blootgestel. Die gevolg was helmknop en stuifmeel aborsie.

'n Kombinasie van hitte en water stremming kan ook lei tot *mst* by koring. Saini *et al.* (1984) het *mst* in *T.aestivum* cv. *Gabo* geïnduseer deur plante bloot te stel aan 30°C vir 3 dae en waterstremming. Die hitte stremming lei daartoe dat blomblaartjies voortydig degenereer. Die proses lei tot volledige of gedeeltelike stuifmeel-steriliteit. Die invloed van stremming op vroulike vrugbaarheid blyk minimaal te wees.



### 3.1.1 Chemies-geïnduseerde manlike steriliteit

Chemies-geïnduseerde manlike steriliteit (CMS) is heel moontlik die mees belowende bron van nie-genetiese manlike steriliteit. Chemikalieë wat stuifmeel-produksie onderdruk staan bekend as chemiese hibridiserings middels (CHM). CHM het die voordeel bo genetiese steriliteit dat die tyd wat dit neem om manlike steriliteit deur terugkruising in 'n genotipe te inkorporeer, gespaar word. Tot gemiddeld 4 jaar kan so bespaar word (Tu *et al.*, 1998).

#### 3.1.1.1 Chemiese hibridiserings middels

Die middel, "Dalapon" is getoets teen verskillende konsentrasies deur Kaul en Singh (1967). Manlike steriliteit is geïnduseer na toediening voor blomvorming. Die behandelings het groei vertraag en verskeie ander morfologiese defekte teweeggebring. Hand-bestuiwings het gelei tot ongeveer 38% saadset, wat daarop gedui het dat vrugbeginsel-skade ook voorgekom het.

"DPX-3778" is deur Johnson *et al.* (1976) gebruik in land-en glashuis-eksperimente. Aan die glashuis-gekweekte plante is 'n behandeling van  $9\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  aktiewe bestanddeel voor spuitvorming toegedien, en byna algehele steriliteit het gevolg. In parallele land-gekweekte plante is dieselfde behandeling toegepas. Byna geen nadelige effek is waargeneem op vroulike vrugbaarheid nie, aangesien 50 - 80% saadset geskied het na hand-bestuiwings. Verdere studies het egter getoon dat genotipiese variasie ten opsigte van chemiese gevoeligheid voorkom. "DPX-3778" as CHM is dus nie geskik vir grootskaalse kommersiële toepassings nie.

'Ethrel' was aanvanklik baie belowend en het volledige *mst* geïnduseer sonder enige vroulike onvrugbaarheid (*fst*). Die middel is toegedien teen 1500 - 3000d.p.m. tydens spuitvorming. Rowell en Miller (1974) het groter sensitiwiteit binne glashuis-proewe vergeleke met land-proewe waargeneem. Die probleem met 'Ethrel' is egter dat die plante vir slegs 'n kort periode behandelbaar is. Die middel het ook nadelige gevolge soos swak aarvorming wat oorkom moet word deur  $\text{GA}_3$ -toedienings. Die ekstra  $\text{GA}_3$ -toedienings stoot kostes op en maak "Ethrel" relatief duur.

"Maleic Hydrazide" (MH) is deur Chopra *et al.* (1960) aangewend op twee variëteite, een met baard en die ander baardloos. Dosisse van 100d.p.m. (3 toedienings) of 250d.p.m. (3



toedienings) is voor vlagblaar verskyning toegedien. Die saad is hierna geoes en 80% daarvan is as bastersaad geïdentifiseer. Ongelukkig het MH aanleiding gegee tot 'n hoë vlak van fitotoksisiteit en skade aan vrugbeginsels.

“RH-531”, “RH-532” en “RH-2956” is sogenoemde chemo-sterilante en groei onderdrukkers wat verwag word om manlike onvrugbaarheid te induseer. Die middels gee egter inkonsekwente resultate en talle ongewenste nuwe-effekte (Jan *et al.*, 1981).

Verskeie ander chemikalieë is ook as CHM uitgetoets. Hedendaags word slegs 2 CHMs in die meeste lande gebruik. “Genesis” word vervaardig deur Hybritech (gesamentlike onderneming tussen Monsanto en Coop de Pau) en “Croiser” deur Hybrinova (Blouet *et al.*, 1999).

**Tabel 1.1: Chemiese hibridiserings-middels wat reeds gebruik is vir die indusering van manlike steriliteit in *T.aestivum***

CHM	Tyd van toediening	Effektiwiteit	Nadele	Verwysing
“Dalapon”	Voor blomvorming	38% <i>mst</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vertraag groei</li> <li>• Morfologiese defekte</li> <li>• Vrugbeginsel skade</li> </ul>	Kaul <i>et al.</i> , 1967
“DPX-3778”	Voor spruitvorming	byna algehele <i>mst</i>	Effektiwiteit wissel tussen genotipes	Johnson <i>et al.</i> , 1976
“Ethrel”	Tydens spruitvorming	100% <i>mst</i>	plante slegs vir kort, spesifieke periode behandelbaar	Rowell <i>et al.</i> , 1974
MH	voor vlagblaar verskyning	80% <i>mst</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• hoë vlak fitotoksisiteit</li> <li>• vrugbeginsel skade</li> </ul>	Chopra <i>et al.</i> , 1960
“RH-531, RH-532 en RH-2956”	Tydens spruitvorming	lae vlakke <i>mst</i>	Vrugbeginsel skade met gepaardgaande verlaagde <i>fst</i>	Jan <i>et al.</i> , 1981

### 3.1.1.2 Vereistes vir chemiese hibridiserings middels

Die ideale CHM moet aan verskeie vereistes voldoen: Eerstens moet dit stuifmeel vrugbaarheid ophef sonder enige nuwe effekte op vroulike vrugbaarheid. 'n CHM moet ook nie mutagenies wees nie. 'n Verdere belangrike vereiste is dat 'n CHM geen nadelige effek vir die gebruiker (teler) of diere (soos voëls) moet hê nie. Bekostigbaarheid en herhaalbaarheid is verdere vereistes (Tu *et al.*, 1998).



Ten spyte van groot besteding in die soektog na die ideale CHM, is 'n middel wat aan al die bogenoemde vereistes voldoen, nog nie gevind nie. Stuifmeelaborsie is normaalweg totaal, gedeeltelik of lukraak. Behandeling was tot dusver ook net effektief vir kort periodes gedurende sekere groeistadia. Veelvuldige aanwendings is nodig wat lei tot hoë kostes. CHM beïnvloed meesal ook vroulike vrugbaarheid en lei tot verlaagde saadset en ander morfologiese veranderings soos misvormde blare (Tu *et al.*, 1998).

CHMs is vir die huidige slegs geskik vir nie-kommersiële aanwendings. Vir CMS om as lewensvatbare alternatief te dien moet dit ten minste moontlik wees om manlike onvrugbaarheid op aanvraag te induseer. CHMs kan indien dit vervolmaak word, as alternatief dien vir sitoplasmiese manlike steriliteit en genetiese manlike steriliteit (Blouet *et al.*, 1999).

### 3.2. Sitoplasmiese manlike steriliteit

Die eerste verslag oor sitoplasmiese manlike steriliteit (SMS) in koring het gevolg na die oordrag van die gewone koringgenoom in die sitoplasmas van *Aegilops caudata* (Kihara, 1951) en *A.ovata* (Fukasava, 1953). SMS veroorsaak nie-funksionele helmknoppe en lei daartoe dat die stuifmeel aborteer. In kruisings tussen 'n SMS-plant en manlik-vrugbare plante word die onvrugbaarheid na alle nageslag oorgedra, want die manlike ouer dra slegs by tot die nukleus en nie tot die nuwe sitoplasma nie (Blouet *et al.*, 1999).

SMS is gewoonlik die gevolg van 'n sitoplasma-oordrag na 'n kruising tussen twee verafverwante plante. SMS kan intraspesifiek, interspesifiek of intergeneries van oorsprong wees. Tydens herhalende terugkruisings na die ontvanger gaan die skenker-genoom (wilde ouer) normaalweg verlore en bly slegs die sitoplasma behoue. Manlik-steriele plasmatipes is ongelukkig nie stabiel nie en terugmutasies mag plaasvind (Blouet *et al.*, 1999).

Prakties gesproke is daar kompliserende faktore wat die aanwending van SMS sisteme beperk. Manlike steriliteit moet stabiel in uitdrukking wees aangesien onstabiliteit lei tot gedeeltelike vrugbaarheid en selfbestuiwing en dus tot moontlike verlaagde bastersaad produksie. 'n Verdere probleem met die gebruik van SMS-sisteme in koring is dat die blommetjies geslote is en kruisbestuiwing deur naburige plante oneffektief is. Een van die mees algemene probleme was en bly egter die groei, ontwikkelings en morfologiese abnormaliteite wat SMS veroorsaak. Herstellergene kom ook soms binne die koring-genoom voor, en hoewel dormant, kan dit intree en SMS ophef (Johnson *et al.*, 1987).



### 3.3. Genetiese manlike steriliteit

Genetiese manlike steriliteit (GMS) word veroorsaak deur chromosomale faktore wat stuifmeel-aborsie tot gevolg het, en kan meesal aan 'n enkelgeen toegeskryf word, hetsy resessief of dominant. GMS kom in talle autogame plante voor. In lima-bone en tamaties word geskat dat nuwe manlike steriliteits-gene deur mutasie ontstaan teen 'n frekwensie van 1 in 20000 plante (Johnson *et al.*, 1987). Nuwe manlike steriliteits-gene word gewoonlik baie maklik geëlimineer uit 'n populasie. Die tempo waarteen dit geskied is 'n funksie van die persentasie kruisbestuiwing. Met volledige inteling geskied eliminasië teen die hoogste tempo (Johnson *et al.*, 1987).

'n Spontane, resessiewe mutant vir GMS is in 1972 in 'n heksaploïede koringlyn ontdek (Driscoll, 1972). Monosomiese analises en toetskruisings het daarop gedui dat die geen op chromosoom 4A voorkom. Hierdie mutasie staan bekend as die "Cornerstone" mutant. Die "Cornerstone" mutant het geen nadelige effek op opbrengs of plantmorfologie nie (Driscoll, 1972).

As bron van manlike steriliteit het GMS sekere beperkinge in terme van kommersiële aanwending. GMS kan slegs deur terugkruisings binne 'n populasie gevestig word. Die proses neem meesal 4 jaar en meer. Vrugbare plante moet fisies uit die vroulike rye verwyder word om ongewenste bestuiwings te verhoed. Dit lei daartoe dat daar twee keer meer plante aangeplant moet word (dominante steriliteitsgeen), en vrugbare plante kan eers na blom geïdentifiseer word. As die vrugbare plante dus te laat verwyder word kan die manlik-steriele plante bevrug word. Ongewenste bevrugtings lei tot verlaagde heterose en 'n gepaardgaande afname van agnomiese uniformiteit (Pickett, 1998).

#### 3.3.1 Manlike steriliteits-gene

Verskeie gene vir GMS is bekend en gekarteer waaronder: *ms1a*, *ms1b*, *ms1c*, *Ms2* en *Ms3*.

Driscoll (1975) het die genetiese verwantskap en chromosoom posisie van die *mst*-gene van die "Pugsley" en "Probus" *mst*-mutante ondersoek. Die mutante gene kon mekaar nie komplementeer nie en 'n gedeeltelike monosomiese analise het daarop gedui dat dit allele van dieselfde geen is en voorkom op chromosoom 4BS. Die "Cornerstone" mutant kom ook op 4BS voor en is allelies met die "Pugsley" en "Probus" allele (Driscoll, 1977). Studies het



aangetoon dat benewens 4B, die mees waarskynlike liggings vir *mst*-mutante 4A, 5A, 5B en 5D is. Nullisome vir die chromosome is *mst*, een ditelosentriese tipe is *mst* en die ander is *mft* (Wilson *et al.*, 1983). Die afleiding is dus dat die delesie van 'n segment vanaf die kritiese arm kan lei tot *mst*. Die *mst* gene in "Cornerstone" en "Probus" mutante is op die kort-arm van chromosoom 4B en ten minste 50 kaarteenhede vanaf die sentromeer (Barlow *et al.*, 1981).

*ms1a* is algemeen bekend as "Pugsley" se manlike steriliteit. *ms1a* het oorspronklik spontaan ontstaan en is geleë op chromosoom 4BS. "Pugsley" en "Osram" het in 1959 *ms1a* die eerste keer geïsoleer (Driscoll, 1975).

*ms1b* is met gebruik van bestraling deur "Pugsley" en "Osram" geïnduseer in die kultivar "Probus". *Ms1b* is gevolglik "Probus" gedoop en kom op chromosoom 4BS voor (Barlow, 1981).

*ms1c* is ook deur bestraling geïnduseer en staan bekend as "Cornerstone". Al drie die *ms1* gene is resessief van aard (Barlow, 1981).

*Ms2* staan algemeen bekend as "Taigu" manlike steriliteit en was voorheen bekend as *Tal* (Huang *et al.*, 1988). *Ms2* is 'n dominante geen, geleë op chromosoom 4DS en is deur Deng *et al.* (1982) ontdek.

*Ms3* is geleë op chromosoom 5AS en is algemeen bekend as "Chris" (Maan *et al.*, 1984). *Ms3* is ontdek na EMS behandeling van sade afkomstig van 'n alloplasmiese broodkoring met 'n *T.tauschii* sitoplasma (Maan *et al.*, 1984). Dit is geleë op chromosoomarm 5AS, 3 kaarteenhede vanaf die sentromeer (Maan *et al.*, 1987).

**Tabel 1.2: Gene vir manlike steriliteit wat alreeds geïdentifiseer en gekarteer is**

Simbool	Gebruiksnaam	Dominant/ Resessief	Setel	Verwysing
<i>ms1a</i>	"Pugsley"	Resessief	4BS	Driscoll, 1975
<i>ms1b</i>	"Probus"	Resessief	4BS	Barlow, 1981
<i>ms1c</i>	"Cornerstone"	Resessief	4BS	Driscoll, 1972
<i>Ms2</i>	"Taigu"	Dominant	4DS	Huang <i>et al.</i> , 1988
<i>Ms3</i>	"Chris"	Dominant	5AS	Maan <i>et al.</i> , 1984



### 3.3.2 Aanwending van manlike steriliteit

Manlike steriliteit het 'n aantal gebruike in koring-teling, nl.; die produksie van kommersiële  $F_1$ -hibriede, produksie van kruisbestuiwende populasies vir suiwerlyn seleksie en die evaluasie van toekomstige ouerlyne en hul kombinerings-vermoë. Manlike steriliteit wat gebaseer word op SMS, GMS en CMS leen hul gewoonlik beter tot die een of ander van hierdie gebruike (Knott, 1989).

Kommersiële  $F_1$ -hibriede word gewoonlik geregverdig op grond van die verkryging van hoër opbrengs, beter saadkwaliteit en/of verhoogde siekteweerstand binne 'n veel korter periode as konvensionele seleksie. Verskeie jare kan gespaar word vergeleke met die toets en vrystelling van 'n nuwe suiwer-lyn. Hibriede het ook die voordeel bo ingeteelde lyne dat kenmerke wat nie fikseerbaar is nie, bv., die akkumulasie van dominante allele vir siekteweerstand, nie afneem soos die fisiologiese plafon vir opbrengs genader word nie. Die stelling berus op die waarneming dat siekteweerstand normaalweg dominant is (Johnson *et al.*, 1987).

Huang *et al.* (1988) het 'n herhalende seleksie program in China geloods, gebaseer op "Taigu" ( $Ms2$ ) GMS. Hulle het gevind dat  $Ms2$  stabiele uitdrukking gee onder 'n reeks omgewingstoetande. Die kultivar "RR7" is gedurende die 1990's deur middel van herhalende seleksie (gebaseer op  $Ms2$ ) ontwikkel. Die kultivar het onder andere verhoogde opbrengs gehad, verbeterde verdraagsaamheid vir brakgronde (<sup>a</sup>Huang *et al.*, 1993) en hoër vlakke van weerstand teen die siekte *Gibberella zeae* (Jiang *et al.*, 1993; <sup>b</sup>Huang *et al.*, 1993).

$Ms3$  het stabiele uitdrukking onder glashuis-toestande waar die temperatuur wissel tussen 16 - 25°C. Gedurende die somer wanneer glashuis-toestande wissel tussen 21 - 35°C is uitdrukking inkonsekwent (Maan *et al.*, 1984). Cox *et al.* (1991) het  $Ms3$  aangewend in kruisings met winterkorings wat geselekteer is op grond van algemene siekteweerstand, aanpasbaarheid, maal- en bak-kwaliteit. Na 2 seisoene van kruisbestuiwing, sonder seleksie, is 550 manlik steriele plante geselekteer, gebulk en geregistreer as kiemplasma bron KS87UP9.



#### 4. Koring-roessiektes

Drie roessiektes, stamroes, geelroes (of streeproes) en blaarroes, kom op koring in Suid-Afrika voor. Hoewel streeproes so onlangs as 1996 vir die eerste keer opgemerk is (Pretorius *et al.*, 1996), het stamroes en blaarroes reeds 'n lang geskiedenis in Suid-Afrika (Scott, 1990). Oor die wêreld is roessiektes ook belangrik (Knott, 1989) en tot soveel as 30% van koringoeste kan in sommige jare verlore gaan weens roessiektes (McIntosh *et al.*, 1995).

Die algemene gebruiksname van die roessiektes is afkomstig van die geel-rooi of swart kolletjies of strepe wat die roespuisies vorm wanneer dit deur die plant se epidermis breek. Die grootte en omliggende verkleuring van die roespuisies varieer en verskillende patotipes kom voor binne elke spesie. Sommige infeksies is slegs as chlorotiese vlekke of bruin nekrotiese areas sigbaar. Alle bogrondse plantorgane (bv. blare en stam) is vatbaar (Wiese, 1977).

Die skade wat die verskillende roessiektes aanrig wissel gewoonlik na gelang van die groeistadium van die plant. Die grootste skade kom normaalweg voor wanneer infeksie in die aar voorkom, hetsy voor, na of tydens blom. Die infeksies verminder blaarmassa en veroorsaak 'n toename in transpirasie en respirasie en 'n afname in die plant se groeikragtigheid (Wiese, 1977).

##### 4.1. Die patogene

Die koring-roes swam behoort tot die genus *Puccinia* van die familie *Pucciniaceae* in die orde *Uredinales* onder die klas *Basidiomycetes* (Littlefield, 1981). Die drie tipes koring-roes is al drie hoogs gespesialiseerde swamme en is verpligte parasiete (Knott, 1989). Stamroes word veroorsaak deur *Puccinia graminis*, blaarroes deur *P.recondita* en geelroes deur *P.striiformis*. Die verskillende swamspesies bestaan elk uit talle verskillende fisiologiese vorms wat bekend staan as rasse/patotipes. Die verskillende rasse is gewoonlik onderskeibaar op 'n differensiële gasheerreks. Die verskillende roese verskil in morfologie, lewenssiklus en optimale groeitoestande (Wiese, 1977).



#### 4.1.1 Geelroes

Geelroes van koring word veroorsaak deur *P.striiformis* en is wêreldwyd 'n kleiner probleem as blaar- en stamroes. Die patogeen het 'n wyer gasheerreeks as stam- en blaarroes en kan tot soveel as 18 grasgenera infekteer, maar het nie 'n identifiseerbare alternatiewe gasheer of geslagtelike stadium in Suid-Afrika nie. Gars en koring is die twee primêre teikens van geelroes en gereelde skade kom voor (Wiese, 1977).

Aangesien daar nie 'n alternatiewe gasheer en geslagtelike stadium voorkom nie, is daar slegs drie spoorstadia bekend naamlik: urediospore, teliospore en basidiospore. Die lewenssiklus behels herhaalde siklusse van ongeslagtelike urediospore stadia (Knott, 1989).

Die simptome van geelroes varieer van groeiseisoen tot groeiseisoen, maar verskyn gewoonlik vroeër as blaar- en stamroes. Die uredia is geel en kom gewoonlik op die blare sowel as die are voor. Die individuele puisies is gewoonlik  $0.3 - 0.5 \times 0.5 - 1$  mm groot. Die urediospore is  $20 - 30 \mu\text{m}$  in deursnee, geel-oranje-kleurig en sferies in vorm (Wiese, 1977).

Die mees ooglopende verskil tussen geelroes en die ander roesswamme is dat 'n enkele infeksie op 'n blaar 'n lang streep uredia veroorsaak. Infeksie geskied gewoonlik deur windgedraagde urediospore. Infeksie kan deur die hele herfs en winter plaasvind en die spore bly lewenskragtig by temperature laer as  $15^{\circ}\text{C}$ . Die spore kan vrygestel word in periodes van stres, koue en hitte, aangesien die urediospore-produiserende swamliggaam in die lewende koringplante bogronds voorkom (Knott, 1989). Die urediospore ontkiem en infekteer tussen  $5$  en  $15^{\circ}\text{C}$  met limiete tussen  $0$  en  $21^{\circ}\text{C}$ . Siekte-ontwikkeling is egter optimaal by  $100\%$  relatiewe humiditeit (RH) en  $10 - 15^{\circ}\text{C}$  (Wiese, 1977).

#### 4.1.2 Blaarroes

Koring blaarroes word deur *P.recondita* veroorsaak. Blaarroes staan ook bekend as bruinroes, dwergroes of oranjeroes (Wiese, 1977). Koring blaarroes is die mees algemene roessiekte en kom wyd verspreid in Suid-Afrika voor. Blaarroes is nes geelroes 'n verpligte parasiet (Wiese, 1977). Die lewenssiklus van blaarroes is baie dieselfde as die van stamroes. Die alternatiewe gashere sluit die *Thalictrum* spesies in. In die meeste areas kom die alternatiewe gasheer nie voor nie, maar waar dit wel voorkom geskied 'n geslagtelike siklus wat lei tot die ontstaan van nuwe roesrasse deur genetiese rekombinasie (Knott, 1989).



Uredia van *P.recondita* is tot 1.5mm in deursnee en kom gewoonlik verspreid of saamgegroepeer voor oor die boonste oppervlak van die blare. Die puisies is rond en oranje tot ligrooi van kleur. Die urediospore is 15 - 30µm in deursnee en rooibruin gekleur. Teliospore kom ook in sommige omgewings voor. Hulle is gewoonlik dieselfde grootte as die urediospore, maar swarter van kleur. Blaarroes ontwikkel optimaal tussen 15 en 22°C in 100% RH toestand. Die infeksie veroorsaak waterverlies en verhoed so die effektiewe vervoer van voedingstowwe, die stam verswak en word dus verder blootgestel aan stres. Sekondêre infeksies soos *Septoria* slaan dan dikwels ook toe (Wiese, 1977).

#### 4.1.3 Stamroes

Stamroes word veroorsaak deur *P.graminis*. Die vroegste gedateerde uitbraak van die siekte is reeds deur die Romeine aangeteken. Stamroes staan ook bekend as swartroes of swart-stamroes. Die naam swartroes is afkomstig van die swart teliospore. Die patogeen val ook gars en baie ander grane aan en word as die mees vernietigende koring-roessiekte bestempel (Knott, 1989).

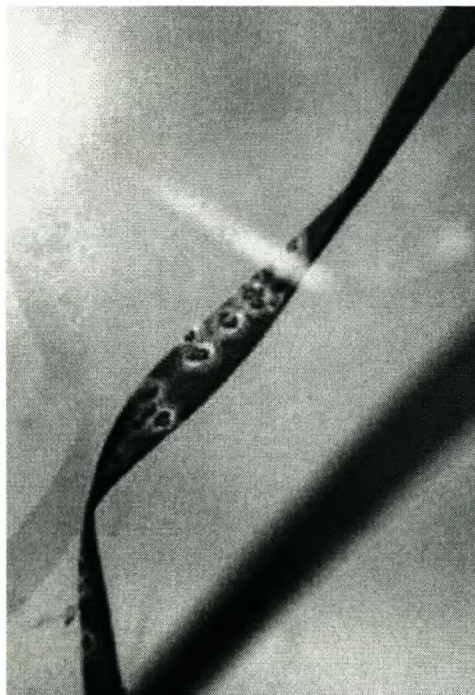
Die lewenssiklus van stamroes is baie dieselfde as die van blaarroes. Verskeie alternatiewe gasheer bestaan waarop stamroes kan oorleef, dit sluit *Berberis* en *Mahonia* spesies in (Knott, 1989).

Anders as by geel- en blaarroes is die puisies redelik groot, ongeveer 2 X 5mm. Hoewel dit meesal op die stamme voorkom, is die blare en are nie uitgesluit nie. Die puisies is ongereeld in voorkoms. Die skade wat die infeksie aanrig lei daartoe dat fotosintese afneem, vervoer van voedingstowwe en water verswak, wortelgroei geïnhibeer word en die plante uiteindelik omval. Vroeë infeksie is dus veral skadelik en kan tot oesverliese lei. Water en relatief hoë temperature is nodig vir die urediospore om te ontkiem. In teenstelling met blaar- en geelroes word siekteontwikkeling bevoordeel deur warmer weer. Optimale ontwikkeling geskied by ongeveer 26°C en 100% RH. Temperature onder 15°C en bo 40°C is ongewens (Wiese, 1977).

**Fig. 1.2 (a)-(b): Uredia van stam- en blaarroes op koring**



**(a) Blaarroes**



**(b) Stamroes**



#### 4.2. Lewenssiklus

Soos reeds vermeld is al drie roessiektes verpligte parasiete. Geelroes verskil van blaar- en stamroes deurdat daar geen getuienis vir 'n geslagtelike fase bestaan nie (Wiese, 1977). Geelroes is wel in staat om basidiospore te produseer. Die tipe spore infekteer normaalweg alternatiewe gashere, dog geen alternatiewe gasheer is reeds geïdentifiseer nie (Knott, 1989) en slegs drie spoor-stadia kom voor naamlik; urediospore, teliospore en basidiospore. Die lewenssiklus self behels herhaalde siklusse van ongeslagtelike voortplanting by wyse van urediospore (Wiese, 1977).

Blaar- en stamroes is egter in staat tot beide geslagtelike en ongeslagtelike voortplanting en hul voortplantingswyse tel onder die mees komplekse van alle swamme (Knott, 1989). Die ongeslagtelike stadium kom gewoonlik op koring of 'n na-verwante spesie voor terwyl die geslagtelike fase op 'n alternatiewe gasheer voorkom, *Berberis* en *Mahonia* spesies vir stamroes en *Thalictrum* spesies vir blaarroes (Knott, 1989).

Die puisies wat meesal tydens infeksie op koringplante waargeneem word staan bekend as uredia en produseer urediospore. Die urediospore verteenwoordig een van vyf spoorstadia wat voorkom in die lewenssiklus van blaar- en stamroes (Knott, 1989). Urediospoor produksie word gewoonlik gekenmerk deur herhaalde sporulasie solank as toestande voordelig bly. Die urediospore is dikarioties en gee die kenmerkende kleur van die roes. Die oorfloed spore wat geproduseer word, word vasgevang tussen die plante en lei tot herhaalde infeksies of kan per wind versprei word. Die urediospore sal slegs ontkiem indien vry water op die plante teenwoordig is en optimale temperature heers (McIntosh *et al.*, 1995).

#### 4.3. Verspreiding

Geelroes is die mees prominente roessiekte in die koeler koringproduserende wêrelddele soos die noord-weste van Europa en noord-westelike Amerika. In Suid-Afrika is die siekte eers in Augustus 1996 aangemeld en is twee patotipes (6E16 en 6E22) reeds geïdentifiseer (Pretorius *et al.*, 1996). Normaalweg word geelroes geassosiëer met bergagtige streke, hoëliggende areas en mistige weer. Ander wêrelddele wat geaffekteer word is: Suid-Amerika, Kenia, China, Midde-Ooste en Indië (Wiese, 1977).



Algehele oes-verliese weens blaarroes kom nie voor nie. Op 'n globale skaal is dit egter meer algemeen as die ander roese weens die swam se groter aanpasbaarheid en die meer gematigde temperatuur-behoefte vir urediospore ontkieming. Die swamme kan ook as urediospore of as teliospore oor-winter. Die verspreiding van blaarroes word beperk deur die gebruik van weerstandbiedende kultivars. Die warmer areas met hoë RH soos die sentrale- en suidelike dele van Europa, Australië, Afrika en Amerika loop egter nog steeds deur (Wiese, 1977).

Roesspore word gewoonlik deur wind versprei en daar word soms verwys na *Puccinia*-roetes. So vind daar 'n verspreiding van spore vanaf Suidelike-Amerika en Mexiko na die Noorde van Amerika plaas oor 'n afstand van 3000km. Soortgelyk bestaan getuienis vir die migrasie van stamroes vanaf Oos-Afrika na Australië (Wiese, 1977).

#### 4.4. Beheer van roessiektes

Die meeste produsente gebruik bestande kultivars en chemiese middels vir die beheer van roessiektes. Enige meganisme wat die siektesiklus onderbreek, of ten minste marginaliseer, kan egter benut word. Die nuwe benadering in die landbou is om siektes eerder te bestuur as te beheer. Verbouings-metodes, geïntegreerde siekte-bestuur, genetiese beheer en biologiese beheer word dus toenemend ingespan (Knott, 1989).

##### 4.4.1 Chemiese beheer

Die chemiese beheer van siektes met fungisiede verval toenemend in onguns. Die produsent beskou dit as te duur en die verbruiker as ongesond. Die produsent sal slegs fungisiede gebruik as die gewas se potensiële opbrengs dit regverdig. Sommige middels vereis twee of meer toedienings en lei dus tot verhoogde arbeidsinsette. Die patogeen mag soms weerstand opbou teen die fungisiede sodat die middels jaarliks minder effektief word. Verbruikers en omgewingsbewustes voel ook bedreig deur chemiese middels waarvan die residue mag voorkom in voedsel, water besoedel, wilde diere skaad en binne die grond opbou (Schafer, 1987).



#### 4.4.2 Verbouings-praktyke

Produsente met 'n grondige kennis van 'n gewas, sy potensiële siektes en heersende klimaatstoestande mag verbouingsmetodes aanpas om siektebeheer uit te oefen. Uitgestelde saaidatums van koring kan byvoorbeeld toegepas word om vroeë infeksie vanaf alternatiewe gashere te verhoed. Die alternatiewe gashere kan plante insluit wat natuurlik voorkom en/of naburige gewasse wees. In situasies waar roesinfeksies laat in die seisoen voorkom, is vroeër saaidatums weer 'n beter opsie. Deur alternatiewe gashere uit te roei kan die oorwintering van swamme gestuit word, en die gevaarlike geslagtelike stadium, wat aanleiding gee tot rekombinasie en gevolglik nuwe patotipes, verhoed word (Knott, 1989).

#### 4.4.3 Genetiese beheer

Biologiese beheer van swamme het dikwels lae effektiwiteit, tog is dit soms moontlik, so byvoorbeeld die gebruik van insekte om alternatiewe gashere te elimineer. 'n Meer effektiewe vorm van biologiese beheer is genetiese beheer deur die verbouing van weerstandbiedende kultivars. Die probleem is egter die beskikbaarheid van weerstandbiedende kultivars aangesien die patogeen voortdurend mutasie en rekombinasie ondergaan om nuwe virulente patotipes daar te stel. Die meeste kultivars wat hedendaags vrygestel word besit dan ook 'n potensiële weerstand teen 'n hele rits roespatotipes. Produsente kry dus die voordeel van weerstand sonder enige addisionele insetkoste (Wolfe *et al.*, 1992).

Die meeste koring-kultivars bied sogenaamde hoofgeen-weerstand teen heersende roespatotipes. Enkele hoofgene is egter maklik oorkombaar deur die evolusie van nuwe roespatotipes. Telers streef dus toenemend daarna om meer bestendige langtermyn weerstand te verkry. Vir die doel word die stapeling van weerstandsgene binne 'n enkele kultivar toenemend belangrik. Die oordrag van gene vanuit naverwante spesies word ook aangewend as bron van nuwe weerstandsgene (Knott, 1989).

Die stapeling van weerstandsgene is egter kompleks en een van die grootste probleme in seleksie is die oorskadu van ander weerstandsgene deur die sterker-weerstandsgene. Die teler tel dus die teenwoordigheid van die ander weerstandsgene moeilik op (Flor, 1942). Hedendaagse molekulêre tegnieke kan egter help om die probleem op te los en



merkerbemiddelde seleksie tree toenemend sterker op die voorgrond. Schachermayer *et al.* (1994) het byvoorbeeld spesifieke inleiers ontwerp vanaf 'n polimorfiese RAPD fragment wat ko-segregeer het met plante wat *Lr9*, 'n blaarroes-weerstandsgen, besit. Die verkreeë SCAR-merker kon in 'n eenvoudige PKR-reaksie benut word om plante met *Lr9* te identifiseer.

#### 4.4.4 Geïntegreerde siekte-bestuur

Aangesien die uitroei van 'n siekte normaalweg tot een of ander disekwilibrium in die natuur lei en boonop onmoontlik blyk te wees, probeer produsente eerder om siektes te bestuur. Dit vereis dat aanvaarbare infeksie-vlakke gehandhaaf word. Geïntegreerde siekte-bestuur (GSB) omvat normaalweg al die ander beheer-meganismes. Indien korrek aangepak is dit moontlik om chemiese beheer heeltemal uit te skakel en volhoubare produksie te handhaaf, selfs binne monokultuur verbouings-areas (Knott, 1989).

#### 4.5. Die gasheer-patogeen-interaksie

Die geen-vir-geen wisselwerking tussen 'n gasheer en sy patogeen is vir die eerste keer deur Flor (1942) geïllustreer vir die roesswam, *Melampsora lini*, en sy gasheer, *Linum usitatissimum*. Na aanleiding van sy resultate het Flor (1971) gepostuleer dat daar vir elke weerstandsgen in die gasheer 'n ooreenstemmende geen vir patogenisiteit in die patogeen teenwoordig is.

##### 4.5.1 Gasheerspesifisiteit

Roes-swamme is algemeen gesproke verpligte parasiete en kan verder geklassifiseer word as biotrofiese swam-patogene van plante. Biotrofe poog om hul gasheer nie te laat afsterf nie, maar eerder beheer oor te neem en die plant so te manipuleer dat die groei en reproduksie van die patogeen bevoordeel sal word. Die swam is baie spesifiek en dit is onmoontlik om dit in kultuur op te kweek (Pryor, 1987).

Daar word algemeen aanvaar dat weerstand van die gasheer as 'n dominante kenmerk oorerf en vatbaarheid as resessiewe kenmerk. Patogeen-virulensie word egter resessief oorgeërf en avirulensie as dominant (Flor, 1956).



Vir die roessiektes kan twee tipes weerstands-sisteme onderskei word naamlik; hoofgeen-weerstand en multigeniese weerstand. Hoofgeen-weerstand (ook vertikale, patotipe-spesifieke weerstand genoem) word meeste deur plantetelers aangewend. 'n Hoofgeen gee gewoonlik oorsprong aan duidelik onderskeibare kategorieë van weerstand of vatbaarheid indien 'n gasheerplant geïnfecteer word. Die patogeen moet die ooreenstemmende virulensiegeen hê om die betrokke gasheer te kan parasiteer. Indien die avirulensiegeen teenwoordig is in die patogeen, herken die gasheer die patogeen-aanval. 'n Hipersensitiwiteits-reaksie word ontketen en gasheerselle in die infeksiegebied word gedood. Die nadeel is egter dat hierdie tipe weerstand maklik deur mutasie in die patogeen oorkom kan word (Sidhu, 1987).

Multigeniese weerstand (ook horisontale, of nie patotipe-spesifieke weerstand genoem) is gewoonlik moeilik om in teling te manipuleer, maar is gewoonlik volhoubaar en stabiel. Die patogeen slaag gewoonlik slegs daarin om 'n intermediêre vlak van infeksie in die gasheer te veroorsaak. Die weerstand kan toegeskryf word aan die bydraende effek van talle mindere gene. Mutasies in die patogeen ten opsigte van een van die loci het dus slegs 'n geringe effek op die totale weerstand van die gasheer (Sidhu, 1987).

Die voortdurende teling van nuwe bestande kultivars veroorsaak dat die patogene voortdurend moet verander om patogenisiteit te behou. Vir virulensie moet die gasheer nie in staat wees om 'n patogeen te herken nie. Nuwe patotipes ontstaan wanneer die patogeen molekules wat deur die gasheer herken word, van struktuur verander en so herkenning vryspring. Die belangrikste bron van nuwe patotipes is mutasies. Patogeen mutasies kan teen 'n frekwensie van so hoog as 1% voorkom, 'n syfer wat 2 – 3 keer hoër is as die spontane mutasietempo (Wolfe *et al.*, 1992). Die mutasies is gewoonlik die produk van delesies en genetiese herrangskikking. Die genetica van horisontale weerstand is ongelukkig nog swak beskryf. Volgens Wolfe *et al.* (1992) kan sekere horisontale weerstandsgene op 'n geen- vir - geen grondslag wisselwerk met die patogeen.

#### 4.5.2 Hipersensitiwiteits-reaksie

Hoewel baie werk reeds gedoen is aangaande die hipersensitiwiteits-reaksie (HR) is die seinmeganismes wat dit aanskakel nog swak bestudeerd. Die HR-meganisme self word egter deeglik verstaan (Hahn *et al.*, 1989). Die HR kom algemeen by hoofgeen weerstand voor. Die reaksie vind plaas sodra die plant die patogeen herken. HR gaan gepaard met die onmiddellike afsterwe van omliggende selle rondom die infeksiehife. Dit lei tot die



onversoenbaarheid tussen die plant en patogeen. Die aanvang en verloop van die HR is gebaseer op komplekse biochemiese reaksies en wissel van plant tot plant (Pryor, 1987).

#### 4.5.2.1 Snellermeganisme

Sodra 'n urediospoor, byvoorbeeld stamroes, op 'n koringplant beland, sal dit gewoonlik ontkiem mits genoeg water beskikbaar is en die omgewingskondisies voordelig is. Kiembuise groei lateraal oor die blaar totdat dit 'n stoma bereik. Die kiembuis ontwikkel vervolgens 'n infeksiehife wat in die stoma afgroei. Die plant sal dan óf die patogeen herken, óf nie. Indien herkenning geskied sal 'n HR ontketen word wat die infeksiehife afsper en inhibeer. Hierdie snellermeganisme berus op die wisselwerking van patogeen-geassosieerde elisitore en gasheer-vervaardigde reseptore (Knott, 1989).

#### 4.5.2.2 Elisitore

Elisitore is molekules wat die patogeen se teenwoordigheid aan die gasheer verklap. Die gasheer baseer dan die aanskakel van sy verdedigingsmeganismes op die elisitore. Die verdedigingsmeganismes, HR, mag die volgende behels: Eerstens kan gasheer-ensiemvlakke binne geïnfekteerde selle verhoog word om die patogeen aan te val. Tweedens kan die gasheer fisiese versperrings neerlê en derdens, kan dit anti-mikrobiese stowwe, bv. fito-aleksiene vrystel wat toksies is vir die patogeen (Anderson, 1989).

Aanduidings is gevind dat elisitore spesifieke reaksies van die gasheer ontketen, veral die produksie van fito-aleksiene. Patogeen-geproduseerde elisitore in die vorm van proteïene, glikoproteïene, onversadigde vette en glukane mag fito-aleksien produksie in die gasheer aanwakker. Fito-aleksiene is anti-mikrobies, het 'n lae molekulêre gewig en kom nie normaalweg in ongeïnfekteerde plante voor nie. Die akkumulasie van fito-aleksiene kan ook plaasvind as gevolg van endogene elisitore wat ontstaan wanneer selle afsterf. Abiotiese faktore soos detergente, temperatuur-uiterses en swaar metale kan dus ook fito-aleksien akkumulasie tot gevolg hê. Abiotiese elisitore is egter nie betrokke by die gasheer:patogeen interaksie nie (De Wit, 1987).

Die bou van die epidermale selle maak dit vir potensiële patogene soms baie maklik om 'n gasheer te infekteer. Die epidermis is redelik los gestruktureer met baie intrasellulêre spasies. Hoewel die epidermale selle dus weerloos voorkom, en die ekstrasellulêre omgewing selfs



voeding aan patogene verskaf, is die sel in staat om tot verdediging oor te gaan. Strukturele veranderinge vind plaas sodra herkenning van die patogeen geskied en verhoed infeksie. Selwand-degraderende ensieme wat onder andere pektiese degraderings-ensieme soos sellulases, galaktinases en xylanases insluit word opgehef. Strukturele modifikasies sluit in die lignifikasie van die selwand, akkumulاسie van hidroksieprolienryke glikoproteïene en kallus-vorming. Die vorming van versperrings lei tot patogeen stuiting (Hahn *et al.*, 1989).

#### 4.5.2.3 Reseptore

Die teenoorstaande van die elisitore van die patogene is die reseptore by die gasheer. Die reseptore word essensiële as oppervlak molekules gedefinieer. Die voorkoms van die reseptore fasiliteer dus die herkenning van die patogeen. Lektien teenwoordig op die selwand van bestaande plante kan funksioneer as herkenningsfaktore vir avirulente rasse van roespatotipes. Lektien is glikoproteïene wat sekere koolhidraatstrukture kan saamheg. Veral die hapteen spesifisiteit maak die lektien geskik as reseptore (De Wit, 1987).

## 5. Seleksie metodes

Plantetelers werk met gewasse wat oor duisende jare deur die mens gedomestiseer is. Tydens die domestisering is onbewustelike seleksie toegepas en is gewasse vir spesifieke gebruike daargestel. Meer onlangs het die moderne wêreld met sy groter wordende populasie egter toenemend vereis dat die produksie van gewasse drasties moes toeneem. Plantetelers het sterker op die voorgrond getree en die afgelope 50 jaar voedsel produksie geweldig laat toeneem as gevolg van verbeterde kultivars (Simmonds, 1980).

Verbeterde telingstegnieke het dan ook daartoe gelei dat plantetelers in 'n toenemende wêreldbevolking se voedselnood kon voorsien. Die toename in voedselproduksie staan bekend as die Groen Revolusie. Die proses is gefasiliteer deur 'n verbetering in konvensionele seleksietegnieke, die groter wordende aanvulling van konvensionele seleksietegnieke met molekulêr gegronde nie-konvensionele tegnieke en 'n algemene verbetering in biometrie m.b.v. rekenaarprogramme o.a. (Poehlman, 1987).



### 5.1. Genotipe-omgewing interaksie

Die nadeel aan die sogenaamde Groen Revolusie was egter dat waar primitiewe boere vir hul eie omstandighede geselekteer het, het dit nou nie meer gebeur nie. Suiwer-lyn kultivars word nou oor veel wyer gebiede geplant as ooit tevore terwyl bewerkingspraktyke en seleksie daarop gerig is om produksie te maksimiseer. Dit het gelei tot groter fluktuasies in genotipe prestasie oor seisoene en omgewings en die realisasie van die konsep: genotipe-omgewing (GE) interaksie (Ivory *et al.*, 1991).

Vanuit 'n teoretiese oogpunt is die genotipe prestasie oor 'n aantal omgewings die produk van die interaksie tussen die genotipe en die toets-omgewing. 'n Kennis van beide die genotipe en die omgewings is dus belangrik en kan lei tot 'n beter peiling van die GE interaksie (Ivory *et al.*, 1991).

#### 5.1.1 Omgewing

Elke lokaliteit (omgewing, E) het sy eie unieke invloede op die genotipe (G) en die teoretiese ideaal om identiese kondisies oor alle lokaliteite te bewerkstellig is nie haalbaar nie. Kwekers en telers gaan egter uit hul pad om kondisies tussen en binne lokaliteite so eenvormig moontlik te maak van een groeiseisoen tot 'n volgende (Ivory *et al.*, 1991).

Plantetelers moet gewoonlik makro- en mikro-omgewings afwykings ingedagte hou. Makro-omgewings afwykings verwys na alle faktore wat onder eksperimentele behandelings ressorteer byvoorbeeld lokaliteit, plant jaar en temperatuur. Die mikro-omgewings afwykings kan in twee komponente verdeel word naamlik die interne en eksterne. Die interne mikro-omgewings afwykings verwys na die plant se orgaan-ontwikkeling. Die eksterne mikro-omgewings afwykings verwys na byvoorbeeld grondvrugbaarheid verskille binne 'n lokaliteit (Hill, 1975).

#### 5.1.2 Genotipe

Die genotipe beskryf 'n kultivar se spesifieke genetiese struktuur. So byvoorbeeld kan 'n aantal plante fenotipies uniform vertoon, maar genotipies divers wees. Normaalweg sal genotipe verskille ontstaan vanuit twee komplementêre allele wat verskil. Genotipes is verder



ook nie almal ewe sensitief vir omgewings veranderinge nie. Hierdie sensitiwiteit is die hooforsaak vir GE interaksie. Kennis aangaande die kiemplasma in 'n telingsprogram is dus essensieel vir 'n planteteler. Verder is 'n basiese kennis aangaande die verskille tussen kwantitatiewe en kwalitatiewe kenmerke ook belangrik. Terwyl slegs enkele gene betrokke is by kwalitatiewe kenmerke soos vrugkleur en siekteweerstand is kwantitatiewe kenmerke soos algemene vrugkwaliteit baie meer kompleks (Ivory *et al.*, 1991).

### 5.1.3 Analise van GE interaksie

Plantetelers moet verskeie onbekendes in ag neem wanneer 'n teelprogram geïmplementeer word, waarvan sommige onder hul beheer is en ander nie. GE interaksie beïnvloed aspekte van 'n genotipe soos: stabiliteit, aanpasbaarheid en oorerflikheid. Stabiliteit verwys na hoe stabiel die prestasie van of die genotipe en/of die omgewing oor 'n aantal omgewings en/of genotipes is. Telers streef daarna om genotipes te teel wat stabiel is oor omgewings en seisoene. Die aanpasbaarheid van die genotipe verwys na die vermoë van 'n genotipe om konstant te presteer oor omgewings, sleg of goed. Die derde aspek is die oorerflikheid van 'n eenskap. Geen program sal sukses behaal indien die aanpasbaarheid en stabiliteit van 'n genotipe aangaande GE interaksie nie oorerfbaar is van een generasie na die volgende (Romagosa *et al.*, 1994).

Plantetelers se fokus op die GE interaksie behels die ontwikkeling van metodes om die grootte van die interaksie te kwantifiseer, die vorm te karakteriseer en metodes te ontwikkel sodat daar op biometriese wyse tussen genotipes onderskei kan word (Cooper *et al.*, 1994). Talle metodes is beskikbaar vir die ontleding van GE interaksie waaronder die analise van variansie-komponente, stabiliteits-analise, multivariaat-metodes en kwalitatiewe metodes (Hohls, 1995).

Die analise van variansie-komponente vir die bestudering van GE interaksies word algemeen gebruik en is goed gedokumenteer. Variansie-komponente word gebruik om die effek van genotipe, omgewing en GE interaksie te skei. Dit word gedoen deur die berekening en vergelyking van gemiddelde kwadrate van variansie-komponente en die herleiding van waargenome en voorspelde waardes. Die nadeel van die metode is dat hoewel die analise jou instaat stel om die GE interaksie te toets en te verminder, dit nie die GE interaksie verduidelik nie (Hohls, 1995).



Stabiliteits-analise gee 'n algemene opsomming van die responspatrone van genotipes t.o.v. veranderings in die omgewing. Die algemene metode vir stabiliteits-analise is gesamentlike regressie-analise en behels die regressie van genotipe-gemiddeldes op 'n omgewingsindeks. Die gebruik van gemiddelde genotipe-waardes vir die opstel van 'n omgewingsindeks word egter toenemend gekritiseer weens 'n gebrek aan onafhanklikheid tussen die omgewingsindeks en genotipe-gemiddeldes wat gebruik word in die regressie. Die alternatief is 'n indeks wat bestaan uit data afkomstig van omgewings-veranderlikes (Hohls, 1995).

Multivariaat-analise ondervang sekere tekortkomings van stabiliteits-analise. Die probleem met stabiliteits-analise is dat dit nie 'n akkurate beeld verskaf van die responspatroon nie, want 'n genotipe se respons op verskillende omgewings is multiveranderlik van aard. Multivariaat-analises stel die teler instaat om genotipes met dieselfde respons saam te groepeer en so ontleding daarvan te vergemaklik. Die nadeel van die klassifisering en groepering van data is egter dat nuwe data geskep kan word en so werklike data kan verwring (Hohls, 1995).

Die meeste metodes bied dus praktiese maniere waarvolgens GE interaksie op wiskundige wyses beskryf kan word om sodoende teling te vergemaklik. Die probleem is egter dat die meeste metodes nie die dieperliggende oorsake vir die GE interaksie aanspreek of verklaar nie. Die mees effektiewe benadering sal moontlik 'n multidissiplinêre aanslag volg met biometrici, plantfisioloë en plantetelers wat saamwerk en so die doeltreffendheid van seleksie verhoog. Alhoewel multivariaatmetodes akademies meer regverdigbaar is, sal liniêre regressie tegnieke vanweë hul statistiese en biologiese eenvoud, steeds gebruik word (Cooper *et al.*, 1994)

#### 5.1.4 Implikasies vir planteteelt

Die meeste probleme met kwantitatiewe genetica en teling word ondervind wanneer afleidings rakende oorerwing gebaseer word op fenotipiese waarnemings wat die GE interaksie buite rekening laat (Hill, 1975). Die rol van GE interaksie in teelprogramme mag aansienlik wees. Plantetelers moet dus versigtig te werk gaan met die keuse van hul proeflokaleite (Omgewing, E) en plantmateriaal (G) wat aangewend word binne programme. Gewoonlik begaan telers drie algemeen identifiseerbare foute wanneer hulle 'n strategie uitwerk om omgewings en seleksie faktore te integreer (Ceccarelli *et al.*, 1994):



Eerstens is telers geneig om die gunstigste omgewing te kies vir seleksie. Die rede blyk te wees dat dit as 'n vereiste gesien word vir volle uitdrukking van gene vir opbrengs. Die ironie is egter dat behalwe vir siekteweerstand, die genetiese verskille onder ideale omstandighede irrelevant is, aangesien ideale toestande normaalweg nie by planttoestande op plase voorkom nie. Tweedens onderskat telers die invloed van die aanvanklike aantal lokaliteite vir inisiële seleksies. Indien te min lokaliteite geneem word sal baie tipes stresstoestande buite rekening gelaat word. Die GE interaksie sal dus definitief 'n invloed uitoefen op die seleksie effektiwiteit. Die derde algemene fout is seleksie vir gemiddeld hoë opbrengs lyne. Hoë gemiddelde opbrengs lyne word uiteindelik bemark en lyne wat spesifiek vir swak omgewingstoestande aangepas is, gaan verlore.

Die GE interaksie en al die probleme wat daarmee geassosieer word, sal waarskynlik nooit opgelos kan word nie. Huidig geniet sekere aspekte rakende die GE interaksie egter prioriteit in statistiese ondersoeke, nl.; die meerderwaardigheid van hibriede bo ingeteelde lyne, stabiliteitsmaatstawwe vir die keuse van ouers, die belang van indirekte seleksie vir die verbetering van aanpasbaarheid en stabiliteit en die inherente vermoë van sekere genotipes om meer stabiel te wees (Becker *et al.*, 1988).

## 5.2. Konvensionele seleksie tegnieke

Seleksiemetodes varieer volgens die gewas ter sprake. Telers moet meesal 'n kompromis tref tussen teoretiese ideale en praktiese beperkings soos begrotings realiteite en beskikbare hulpmiddele. Konvensionele metodes vir die verbetering van selfbestuiwende gewasse sluit in: stamboekseleksie, massaseleksie, enkelpit-verhaalde nageslagseleksie, terugkruising, komposiet kruising, herhalende seleksie en  $F_1$ -basterproduksie (Poehlman, 1987).

### 5.2.1 Komposiet kruisings

Komposiet kruisings word normaalweg uitgevoer met tussen 8 en 50 ouerlyne en het ten doel om 'n diverse genepoel te skep. Die kruisings word normaalweg uitgevoer deur ontmannings en kruisings per hand te doen en kan ook aangewend word om 'n spesifieke geen, bv. vir manlike steriliteit, te inkorporeer. Komposiet kruisings word dikwels aangewend om 'n uitgangspopulasie vir herhalende seleksie by 'n selfbestuiwende gewas te vestig (Poehlman, 1987).



### 5.2.2 Herhalende seleksie

Selfbestuiwing verhoog die kans vir fiksasie van allele en verlaag die moontlikheid vir nuwe, meer voordelige alleel kombinasies. Die kennis het gelei tot die gedagte dat kruisbestuiwing van geselekteerde plante in segregerende populasies ( $F_2$ ,  $F_3$ , ens.) van natuurlik, selfbestuiwende gewasse groot voordeel mag inhou (Matzinger *et al.*, 1968).

Hoewel koring 'n selfbestuiwende gewas is, is dit bekend dat kruisbestuiwing mag voorkom onder natuurlike toestande. Koring hibriede kan geskep word d.m.v. ontmannings per hand of deur die inkorporering van 'n genetiese manlike steriliteits-sisteem. Genetiese manlike steriliteit word algemeen d.m.v. terugkruising en komposiet kruisings in 'n populasie ingebou (Johnson *et al.*, 1987). Die produk kan dan aangewend word in herhalende seleksie (Poehlman, 1987). Herhalende seleksie as telingsstrategie is oorspronklik binne kruisbestuiwende gewasse ontwikkel. Gedurende die 1960's het telers dit egter begin aanpas vir gebruik in selfbestuiwers met die doel om die aantal voordelige gene binne 'n populasie te verhoog. Vir kruisbestuiwende gewasse is die maak van hibriede eenvoudig. Selfbestuiwers skep egter probleme in terme van herhalende seleksie. Omdat die natuurlike vlak van verbastering so laag is gaan die voordeel van die tegniek verlore. Die inkorporering van manlike steriliteit kan egter die probleem uitskakel (Poehlman, 1987).

Die gebruik van herhalende seleksie kan voordelige gene akkumuleer, die stapeling van mindere gene bespoedig en so die stabiliserende effek hiervan op 'n populasie verhoog. Herhalende seleksie skep die verdere voordeel dat nadelige koppelings verbreek kan word en die oordrag van gesogte gene vanuit 'n swak genotipe verhaas kan word (Huang *et al.*, 1988).

Olmedo-Areaga *et al.* (1995) het gevind dat 2 siklusse van herhalende seleksie die opbrengs van durum met 6.2% per siklus verhoog sonder om genetiese variasie in te boet. In 'n soortgelyke proef met koring het Chander *et al.* (1993) ook positiewe resultate behaal na 2 siklusse van herhalende seleksie gekombineer met matige seleksie in die  $F_2$ .

Loffler *et al.* (1983) het die proteïënhoud van 'n lentekoring met 0.35 - 0.5% per siklus verhoog in 2 siklusse van herhalende seleksie. Die wins aan proteïënhoud het egter ten koste van totale opbrengs geskied. Delzer *et al.* (1995) het soortgelyke resultate gerapporteer na 4 siklusse van herhalende seleksie in koring. Totale opbrengs het 'n konstante afname getoon gepaardgaande met 'n proteïënhoud toename.



### 5.3. Faktore wat kruisbestuiwing beïnvloed

Blomstruktuur, antese en helmknopvrystellings-patrone maak van koring 'n selfbestuiwende gewas (Percival, 1921). Die omvang van kruisbestuiwing by koring wissel van 0 - 4% (Quisenberry, *et al.*, 1967.) en selfs tot 10% (Poehlman, 1987) volgens sommige bronne. Veranderlikheid ten opsigte van natuurlike kruisbestuiwing by koring kan toegeskryf word aan die blom kenmerke en variasie in omgewings faktore.

#### 5.3.1 Blom funksionaliteit en struktuur

Stigma grootte, stylleengte, stigma ekstrasie, stigma ontvanklikheid, helmknopgrootte en die hoeveelheid stuifmeel is almal blomstruktuur eienskappe wat kruisbestuiwing by koring beïnvloed. Merkbare verskille kom voor tussen lyne. Die eerste beskrywing van die blomproses by koring is gedoen deur Percival (1921). Die fokus van koringnavorsers val meesal op faktore wat blom opening, duur van stigma ontvanklikheid en stuifmeelvrugbaarheid beïnvloed.

Koringblommetjies bereik hul optimum oop posisie soggens tussen 9:00 tot 11:30 en weer tussen 15:00 tot 17:00. Dit het soos baie ander selfbestuiwers, 2 swelkliertjies by die basis van die vrugbeginsel en hul primêre doel is om die blommetjie tydens antese oop te maak. Wanneer bestuiwing nader, begin die swelkliertjies vergroot wat daartoe lei dat die palea en lemma van mekaar begin skei. Die rol wat die swelkliertjies speel tydens kruisbestuiwing is belangrik aangesien dit helmknop ekstrasie beïnvloed asook stuifmeel ontvanklikheid. By koring is die swelkliertjies se normale werking afhanklik van RH en koel temperature. McNeal en Ziegler het swelkliertjies afkomstig vanaf lentekoring blommetjies op 'n daaglikse basis na blom gemeet. Die resultate het getoon dat 'n toename in grootte plaasvind tot ses dae na blom. Swelkliertjies van beide hand ontmande en manlik steriele are het groter, wyer en swaarder afmetings getoon as die van manlik-vrugbare are (Kaul, 1988).

Stigma ontvanklikheid is noodsaaklik vir kruisbestuiwing van koring aangesien presiese sinchronisasie van antese in die manlike ouer en blom in die vroulike ouer moeilik haalbaar is. Stigma ontvanklikheid word normaalweg gemeet aan saadset op manlik steriele plante. Die meeste studies dui daarop dat die omgewing 'n groter rol speel as genetiese effekte (Khan *et al.*, 1973; Zeven, 1968).



Landtoestande is normaalweg swak en verkort die periode van stigma ontvanklikheid. Studies het aangetoon dat stigma ontvanklikheid, vanaf twee (Khan *et al.*, 1973) tot 13 dae (Rajki *et al.*, 1966) kan strek. Volgens Imrie (1966) verlaag stigma ontvanklikheid soos die blomperiode voortduur terwyl die stuifmeel storting toeneem. Johnson *et al.* (1976) het aangetoon dat beide ouerlyne op dieselfde dag moet blom vir maksimale kruisbestuiwing.

Aangesien saadset as maatstaf van stigma ontvanklikheid dien, is die vlak van stuifmeel vrugbaarheid belangrik. Watkins en Curtis het in groeikamerstudies bevind dat stuifmeel lewenskragtigheid afneem soos temperatuur toeneem by alle relatiewe humiditeite getoets (20, 50 en 80%) en afneem soos RH afneem by alle temperature getoets (20, 25, 30 en 35°C) (Kaul, 1988).

### 5.3.2 Effek van afstand

In koring is verskeie studies reeds onderneem om die effek van afstand en windrigting op kruisbestuiwing en saadset te ondersoek (Miller *et al.*, 1976; De Vries, 1974; Stoskopf *et al.*, 1972; Kihara *et al.*, 1964; Bitzer *et al.*, 1967). Holland en Roberts het aangetoon dat saadset afneem van 57,6 - 15,3% soos die afstand tussen die stuifmeelouer en vroulike ouer vergroot van 0,3 to 29,0m (Kaul, 1988).

### 5.3.3 Effek van planthoogte

Die waarneming dat die afstand van die stuifmeel verspreiding deur wind geaffekteer word, het gelei tot die besef dat bestuiwing aangehelp kan word deur die manlik-steriele ouer laer as die stuifmeel-ouer te plaas (De Vries, 1972). Die Vries (1972) het studies onderneem waarin stuifmeel konsentrasies bepaal is op verskeie hoogtes rondom die are. Dit het getoon dat stuifmeel konsentrasies 20cm bo die are laer is as 20cm onder die are. Onder windlose toestande val stuifmeel teen 'n tempo van 1cm/sek. vanaf 'n 1m hoogte.



#### 5.4. Kwaliteitstoetsing

Een van die doelstellings van 'n teelprogram vir broodkoring is die ontwikkeling van kultivars met aanvaarbare meelblom eienskappe. Meelblom het 'n unieke samestelling wat dit baie geskik maak vir die maak van gerysde produkte. Tydens die meng van koringdeeg ontwikkel 'n elastiese gasbehoudende sisteem wat hoofsaaklik berus op unieke visko-elastiese kenmerke van die endospermproteïene. Hierdie netwerk vang gasborrels ( $\text{CO}_2$ ) vas wat met fermentasie gevorm word. Tydens die bakproses sit die gasborrels uit en laat die produk rys. Die kwaliteit van meelbom varieer egter baie en hul geskiktheid om 'n funksionele deeg te verseker hang hiermee saam. 'n Wye reeks chemiese ontledings en fisiese toetsmetodes bestaan om die kwaliteit van koringgenotipes te beoordeel (Hoseney *et al.*, 1971).

Telers het veral 'n probleem rondom vroeë generasie seleksie vir kwaliteit binne 'n teelprogram deur te voer. Die hoeveelheid meelblom beskikbaar is min en groot populasies is ter sprake (koste). Die miksograaf is egter een van verskeie apparate wat uitstekend geskik is vir vroeë generasie toetsing en terselfdertyd baie bruikbare data genereer. Die apparaat is 'n registrerende deegmenger wat die mengeienskappe van 'n deeg evalueer (Finney *et al.*, 1972).

Aangesien die mengeienskappe van 'n meelblom primêr verband hou met die proteïen inhoud en gehalte kan dit as 'n vroeë seleksie maatstaf gebruik word. Die miksogram is reflektierend van deegsterkte (gluten-gehalte), waterabsorpsie (soos gereflekteer deur die piekhoogte), proteïeninhoud en stysel beskadiging.

#### 5.5. Nie-konvensionele seleksie tegnieke

Ten spyte van aanvanklike probleme kan sel- en weefselkultuur tegnieke asook molekulêre DNA tegnieke nou op 'n roetine grondslag in koringnavorsing aangewend word. Die tegnologie moet egter gesien word as 'n middel om konvensionele planteteelt tegnieke aan te vul en te verfyn. Hieronder ressorteer: haploïede tegnieke (Lesch, 1997), merker bemiddelde seleksie en transgeen tegnologie (Stam, 1994).



### 5.5.1 Verdubbelde haploïede

Die waarde van haploïede in genetiese analises en planteteelt is reeds vir dekades bekend. Natuurlike haploïede embrios en plante afkomstig vanaf gametofitiese selle is reeds by meer as 100 angiosperm spesies beskryf. Haploïede is egter die uitsondering eerder as die norm in die natuur. Vir haploïede om suksesvol deur plantetelers aangewend te word moet die vermoë bestaan om dit na willekeur te kan produseer (Pienaar *et al.*, 1997). Spontane haploïede koringplante is reeds so vroeg as 1926 beskryf (Gaines *et al.*, 1926). Die roetine verdubbeling van haploïede in koring is egter maar nog net vir meer as 'n dekade moontlik (Baenziger *et al.*, 1990).

#### 5.5.1.1 Tegniek

Die beskikbare tegnieke vir haploïede produksie kan in twee kategorieë geklas word naamlik; *in vitro* metodes en *in vivo* metodes. Die tegnieke verskil van gewas tot gewas en sekere aanpassings kom binne gewasse voor. *In vivo* metodes sluit tegnieke soos, mikrospoor-kultuur en die gebruik van fisiese mutagense bv. bestraling en chemiese middels in. Die *in vitro* metodes sluit onder meer die chromosoom eliminasië tegniek in. Laasgenoemde tegniek berus op die gebruik van 'n vreemde stuifmeelouer (bv. mielies). Die vreemde chromosoom gaan dan verlore tydens die eerste delings en slegs die haploïede chromosoomstel van koring bly behoue. Die haploïed se chromosoomgetal word vervolgens met kolgisien verdubbel om verdubbelde haploïede (VHe) daar te stel (Baenziger *et al.*, 1990).

Drie tegnieke vir die produksie van VHe word algemeen in koring gebruik, naamlik; die helmknopkultuur-tegniek, die *Hordeum bulbosum*-tegniek en mielie-tegniek. Laasgenoemde twee tegnieke is gebaseer op wye kruisings en die eliminering van die vreemde chromosome in die sigoot (Pienaar *et al.*, 1997).

#### 5.5.1.2 Praktiese toepassing

Hoewel VHe verskeie voordele het is daar ook sekere nadele. Die tegnieke spaar wel tyd met die verkryging van homosigotiese lyne, maar omdat fenotipiese seleksie vir eenvoudig



oorgeërfde kenmerke uitgestel word, word baie van die haploïede geëlimineer. Daarteenoor het die teler die kans om ingeteelde lyne tydens elke siklus van inteling te evalueer. Teen die tyd dat homosigositeit bereik word is die lyne reeds goed gekarakteriseer. Aangesien die VH tegniek gespesialiseerde toerusting en personeel vereis is dit nie altyd prakties haalbaar of toepasbaar binne enige omstandighede nie. Die onvoorspelbaarheid en genotipiese gebondenheid van VH metodes is verdere nadele. Waar telers in staat is om deur konvensionele metodes die aantal ingeteelde lyne te beheer kan die aantal VH plante wat elke hibried sal produseer nie voorspel word nie (Baenziger *et al.*, 1990).

Die voordele van VHe is egter belowend en word toenemend ontgin. 'n Resessiewe eienskap waarna 'n teler soek kan makliker geïdentifiseer word met die gebruik van VHe. Die voordeel kan as volg statisties voorgestel word:

$(\frac{1}{2})^x$  = kans om 'n spesifieke resessiewe genotipe uit 'n heterosigoot te herwin met die haploïede tegniek

$(\frac{1}{4})^x$  = kans met konvensionele metodes

X = aantal heterosigotiese loci

Seleksie tussen VHe vir kenmerke wat beheer word deur dominante allele word ook nie gekompliseer deur die probleem om tussen homosigote en heterosigote te onderskei nie (Baenziger *et al.*, 1990). VHe is totaal homosigoties en is meer stabiel. Die mees ooglopende voordeel is dat homosigositeit in veel minder generasies bereik kan word as met die gebruik van konvensionele tegnieke. Die tyd wat gespaar kan word kan tot soveel as vyf jaar beloop (Baenziger *et al.*, 1990). Verder meer kan totaal homosigotiese lyne binne een generasie vanaf 'n heterosigotiese ouer geskep word. In self bestuiwende gewasse soos koring kan die eienskap dus aangewend word om kultivar ontwikkeling te versnel (Lesch, 1997).

Verskeie kultivars is reeds ontwikkel en vrygestel met gebruik van die helmknopkultuur-tegniek. Tot en met 1991 het Chinese plantetelers 21 nuwe koring-kultivars vrygestel wat op die wyse verkry is. Die kultivars beskik oor die algemeen oor goeie agronomiese eienskappe, hoë opbrengs en goeie aanpasbaarheid. Die Chinese het sodanig gevorder met VHe dat dit op roetine basis toegepas word ter aanvulling van konvensionele teelprogramme (Hu, 1992).

VHe kan ook gebruik word vir molukulêre genoom-kartering, veral vir kwantitatiewe kenmerk loci (KKL) analyses. VH-populasies geskep uit  $F_1$ -plante kan vir karteringsdoeleindes gebruik word. Omdat die karteringspopulasie dan uit homosigote bestaan kan dit maklik onderhou en gekarakteriseer word vir merkerogene (Picard *et al.*, 1990).



### 5.5.2 Merker bemiddelde seleksie

Die potensiële gebruik van gene as merkers in genetiese analise of studies van kwantitatiewe variasie is reeds in die 1920's en 1930's besef. Sax (1923) en Rasmusson (1932), het byvoorbeeld koppelings-assosiasies aangetoon tussen sekere kwalitatiewe en kwantitatiewe kenmerke in kruisings tussen genotipes diverse bronne. Voor die koms van DNA-merkers is morfologiese merkers (bv. blaarpuntnekrose vir *Lr34*, geel endosperm vir *Lr19*, ens.) en biochemiese merkers (bv. endopeptidase vir *Lr19*, ens.) gebruik. Meer onlangs het groot aantal molekule merkers beskikbaar geword wat enorme potensiaal skep (Stam, 1994).

Navorsers poeg tans om die genoom van elke gewas te versadig met molekule merkers. Die onderskeie gewasse het dan ook spanne navorsers wat genoom-karterings projekte onderneem (Stam, 1994). Molekule merkers bied talle toepassings in planteteelt. Merker bemiddelde seleksie (MBS) word gebaseer op koppelings-assosiasie tussen merkers en agnomiese kenmerke in 'n gewas. Molekule merkers vind ook verskeie ander toepassings in praktiese planteteelt, byvoorbeeld kiemplasma bestuur, seleksie vir kwantitatiewe kenmerke, MBS, kultivar beskerming en registrasie van nuwe kultivars (Stam, 1994).

#### 5.5.2.1 Koppelings-assosiasie

Koppelings-assosiasie is een van die sleutel-konsepte by MBS. Kruisings met maklik opspoorbare korrelasies tussen agnomiese kenmerke en merkers is nodig om koppelings-assosiasies te identifiseer. Nie alle populasies is egter geskik hiervoor nie. 'n Aantal segregerende populasie tipes kan aangewend word vir die opsporing van koppelings-assosiasies. Die klassieke tipes is; die eerste generasie terugkruisings ( $T_1$ ) en vol-sib families (allogame spesies). Indien moontlik is VHe ook 'n goeie alternatief. Sommige navorsers verkies rekombinante ingeteelde lyne (RILe) afkomstig van  $F_2$  of latere generasies (Lande *et al.*, 1990).

Vir navorsers in die algemeen is VHe en RILe soms aantrekliker as die klassieke populasie tipes, want albei kan onbeperk in stand gehou word sonder verlies aan hul genetiese identiteit. Veral KKL-opsporing vind baat hierby aangesien replikate oor verskeie omgewings geplant kan word (Lande *et al.*, 1990).



Dominante merkers genereer oor die algemeen minder informatiewe data as kodominante merkers. As VHe of RILe gebruik word, maak dit egter nie saak nie aangesien beide uit totaal homosigotiese individue bestaan. Die tipe merkers wat gekies word sal ook beïnvloed word deur die koste en kompleksiteit van die tegnieke betrokke en die graad van polimorfisme wat geproduseer word (Lande *et al.*, 1990).

#### 5.5.2.2 Kartering van kwantitatiewe kenmerk loci

Metodieke vir die opspoor en genetiese kartering van KKL word gedurig beter en meer doeltreffend a.g.v. verbeterde statistiese metodes. KKL opsporing kan miskien die beste beskryf word as 'n manier om die genetiese komponent van identifiseerbare komplekse kenmerke op te breek tot Mendeliese faktore. Die mees algemene manier van KKL-kartering is sg. interval kartering soos ontwikkel deur Lander *et al.* (1989). Die tegniek het egter sekere gebreke en maak bv. nie voorsiening vir omgewings interaksie nie.

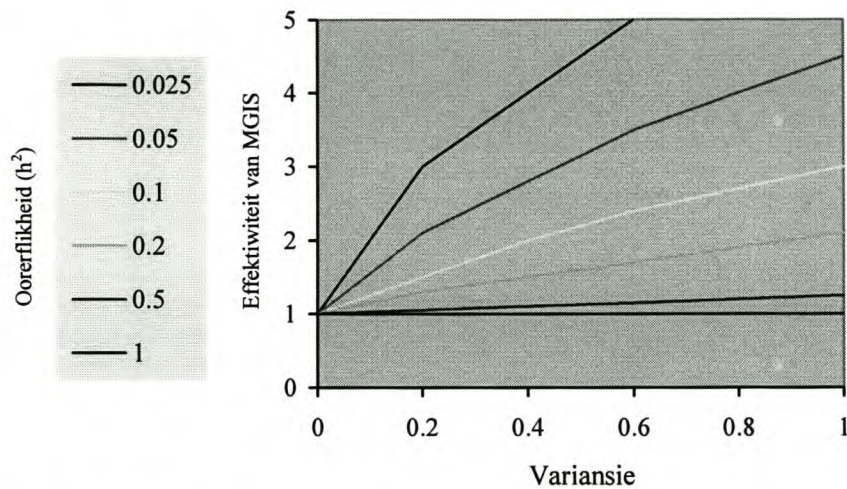
#### 5.5.2.3 Merker bemiddelde seleksie

Merker gebaseerde indeks seleksie (MGIS) is een van die beter beskryfde tegnieke. Lande *et al.* (1990) het die effektiwiteit van MGIS vir 'n kwantitatiewe kenmerk relatief tot die fenotipe bestudeer en voorgestel dat 'n indeks opgestel word waar fenotipe en merker genotipe geweegde waardes besit. Die relatiewe effek van responsie t.o.v. seleksie word gegee deur:

$$RE = \sqrt{\frac{p}{h^2} + \frac{(1 - p)^2}{1 - h^2 p}} \quad (1)$$

waar  $h^2$  die oorerflikheid van die kenmerk voorstel en  $p$  die proporsie van die additiewe genetiese variansie wat verklaar word deur die merkers. 'n Grafiese voorstelling van die vergelyking word weergegee in Fig. 1.3 (Stam, 1994). Uit Fig. 1.3 blyk dit dat hoe laer die oorerflikheid is, hoe meer voordelig is MBS. Lande *et al.* (1990) wys egter daarop dat soos generasies voortgaan, merkers minder effektief sal wees weens 'n afname in koppelings-dis-ekwilibrium.





**Fig. 1.3: Die relatiewe effek van merker gebaseerde indeks-seleksie vir verskillende oorerflikhede ( $h^2$ ) (Aangepas van Stam, 1994)**

Merker bemiddelde geen opsporing maak staat op die moontlikheid om gemerkte chromosoom-segmente in opeenvolgende generasies van 'n teelprogram te volg. Dit behels nie net die seleksie van voordelige allele of alleel-kombinasies nie, maar het ook 'n toepassing in die keuse van toekomstige ouers vir verdere kruisings om nuwe belowende, gemerkte chromosoom-segmente te skep (Chyi *et al.*, 1994).

'n Area van planteteelt waarvoor MBS groot belofte inhou is geakkumuleerde weerstand teen peste en siektes. Dit word algemeen aanvaar dat stapeling van weerstandsgene bydra tot die duursaamheid van weerstand. Wanneer gene vir gedeeltelike weerstand gekombineer word binne 'n fenotipe is die afsonderlike bydraes moeilik bepaalbaar. Indien die gene egter gemerk is, kan hul stapeling en die invloed op die fenotipe bepaal word (Chyi *et al.*, 1994).

Die voorspelling van heterose is nog 'n toepassing van MBS. Die keuse van ouers in konvensionele teelprogramme is 'n kardinale stap. Indien telers met goeie ouers begin kan latere probleme verhoed word. Die voorspelling van watter kombinasies van ouers die beste kruisings sal lewer kan veral van groot waarde wees (Stam, 1994).

Die genoom karterings projekte wat tans in plek is vir verskeie gewasse genereer groot hoeveelhede genetiese informasie. Gedetailleerde genetiese kaarte van gewasse wat tans beskikbaar is gee nie net die posisies van DNA merkers nie, maar ook van talle gene. Die kennis kan op verskeie wyses aangewend word. Die behoud van gene oor spesies (sintenie) kan dikwels gebruik en uitgebrei word na minder goed bestudeerde gewasse. Kennis van die



tamatieplant se kaart kan o.a. toegepas word op die naverwante aartappelplant se genoom (Hu *et al.*, 1994) en voorbeelde bestaan waar 'n KKL vir siekteweerstand in tamaties ook in blaarslaai en mielies geïdentifiseer is (Hu *et al.*, 1994). Hu *et al.* (1994) het verder gerapporteer dat die KKL nie net teen 'n spesifieke siekte weerstand bied nie, maar binne elke gewas 'n verskil toon.

#### 5.5.2.4 Toekoms vooruitsigte

Molekulêre merkertegnologie het nog baie ontwikkelingswerk voor, maar het onlangs groot vooruitgang gemaak a.g.v. verbeterde laboratorium-tegnieke en statistiese metodes. Die doeltreffendheid is egter te bevraagteken. Nie net is daar nog te min kundigheid beskikbaar nie, maar ook is te min inligting van werklik voordelige merkers beskikbaar vir grootskaalse kommersiële toepassing (Stam, 1994).

#### 5.5.3 Biotegnologie

Vir telers om 'n suksesvolle baster teelprogram vir koring op die been te bring is diverse kiemplasma noodsaaklik asook effektiewe stuifmeel-kontrole. Nuwe biotegnologiese metodes bied baie belowende alternatiewe vir die tradisionele metodes van karakterisering van ingeteelde lyne, skepping van 'n heterotiese genepoel en die skepping van manlike steriliteitssisteme. Indien korrek toegepas kan hierdie metodes bydra om die tempo van ontwikkeling asook kostes te beperk (Banga *et al.*, 1998).

Veral die skepping van manlike steriliteit is nuttig. Manlike steriliteit en self-onverenigbaarheid word veral aangewend vir baster produksie. Die spesifieke meganisme vir manlike steriliteit wissel van spesies tot spesie. Manlike steriliteit kan permanent wees d.m.v. oorerflike gene of tydelik geïnduseer word deur o.a. 'n CHM (Johnson *et al.*, 1978). Genetiese ingenieurstechnieke maak dit egter ook moontlik om geenvolgordes vir manlike steriliteit te kloner en in te voeg in 'n manlik-vrugbare plant (Banga *et al.*, 1998).

Biotegnologie het potensieel enorme waarde, maar transgeniese plante het verskeie probleme soos pleiotropie, geen transgeen onderdrukking, onstabielheid in uitdrukking en publieke teenstand (Banga *et al.*, 1998).



## 6. Doelwitte van studie

Die primêre oogmerke met hierdie projek was:

- (a) Om vas te stel of dit moontlik is om 'n eenvoudige, goedkoop en doeltreffende werkswyse te ontwikkel om op roetinebasis groot aantalle koringplante te laat kruisbestuif. So 'n tegniek is 'n voorvereiste vir 'n lewensvatbare herhalende seleksieprogram vir die gewas.
- (b) Om die gebruik van 'n dominante geen vir manlike steriliteit, *Ms3*, vir die roetineproduksie van  $F_1$ -hibriede onder veld- en glashuistoestande te evalueer.
- (c) Om 'n onbekende, dominante bron van manlike steriliteit wat in 'n segregerende populasie van 'n roetine teelprogram gevind is, te probeer karakteriseer.
- (d) Om 'n roetine seleksieprogram gebaseer op herhalende seleksie voor te stel en te implementeer.



## Hoofstuk 2: Materiaal en metodes

Die roetineproduksie van hibriede binne 'n herhalende seleksieprogram vereis sekere vaardighede en kennis.

Eerstens verg die effektiewe aanwending van dominante manlike steriliteit vir die daarstelling van vroulike ouers in 'n herhalende seleksieprogram, dat steriele are reeds voor bestuiwing versamel (afgesny) moet word en nog steeds kiemkrachtige sade kan lewer. Die ontwikkeling van 'n metode om gesnyde halms in waterkulture te kweek is dus nodig.

Tweedens is kennis aangaande die dominante, manlike steriliteitsgeen, *Ms3*, nodig. Die graad van uitdrukking van steriliteit, die omgewings-invloed daarop en die graad van natuurlike kruisbestuiwing moet bepaal word.

### 1. Optimisering van waterkulture

Koring is 'n selfbestuiwer en kruisbestuiwing geskied nie effektief onder normale toestande nie. Die manlike en vroulike are moet dus so na as moontlik aan mekaar geplaas word met die manlike are effens hoër om fisies stuifmeel oor naburige vroulike plante te kan stort. Indien kruisbestuiwing tussen plante (in glashuis of land geplant) bewerkstellig moet word, sou dit baie ruimte en arbeid in beslag neem en nie altyd prakties haalbaar wees nie. Die saadset sal ook relatief laag wees.

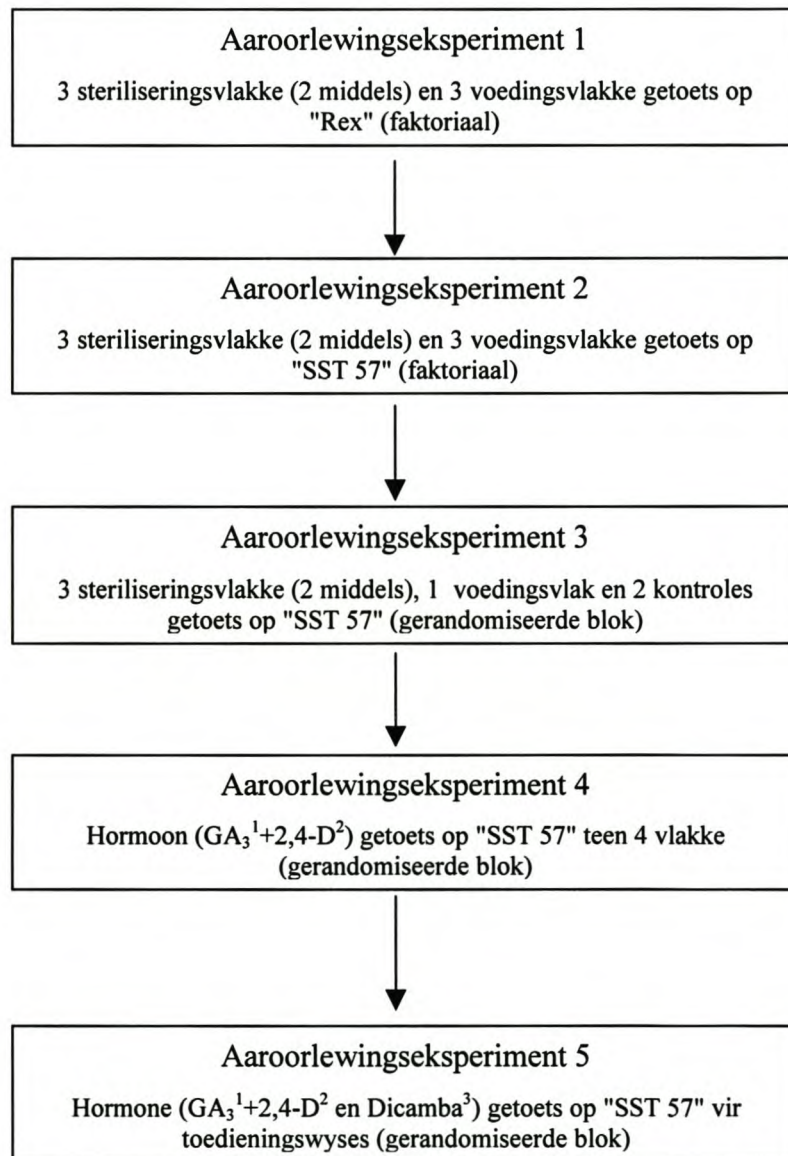
Indien are afgeknip word en fisies so geplaas word dat bestuiwing bevorder word, kan baie beter kontrole oor die hele proses uitgeoefen word. Die aar moet egter vir ongeveer 48 dae sonder die plant kan oorleef, en die saadkwaliteit moet goed genoeg wees om  $F_1$ -kiemkrachtigheid te verseker. Optimale kondisies moet dus gevind word om die geknipte are te laat oorleef. Die mees logiese werkswyse sou wees om die aar te kweek onder dieselfde kondisies as dit waaronder dit op die plant sou gebly het. Voeding, temperatuur, beligting, humiditeit en belugting is dus almal faktore wat na vore kom.

Proewe is gedoen om die lewensduur, kwaliteit en opbrengs van gesnyde are wat in kultuur gekweek word te optimiseer. Die vroulike are word kort voor blom vanaf die plante geoes deur dit laer as die laaste lit, en verkieslik laer as die voorlaaste lit af te knip. Op die wyse word verseker dat ten minste die vlagblaar behoue bly. Manlike are word so geknip dat die halms so lank as moontlik sal wees. Manlike halms word van hul blare gestroop omdat die



blare doeltreffende stuifmeel verspreiding belemmer en in elk geval nie nodig is vir die oorlewing van manlike halms vir die tydskuur van bestuiwing (3 – 4 dae) nie. Die gesnyde halms word onmiddellik in plastiekhouders geplaas waarin daar 'n vooraf uitgewerkte voedingsoplossing is en lug konstant deur geborrel word.

'n Reeks eksperimente is gedoen met die doel om 'n sisteem vir die kweek van are te optimiseer. Met elke eksperiment is verskillende konsentrasies van voedings- en steriliseringsmiddel getoets.



<sup>1</sup>GA<sub>3</sub>: "Gibberellic acid"

<sup>2</sup>2,4-D: "2,4-Dichlorophenoxyacetic acid"

<sup>3</sup>Dicamba: "3,6-Dichlorophenoxyacetic acid"

**Fig. 2.1: Skema ter illustrasie van die volgorde van die aaroorlewingseksperimente**



### 1.1. Eksperiment 1

Gedurende die eerste proef is drie vlakke van voeding en drie strategieë vir sterilisering in 'n 3 X 3 faktoriale eksperiment (2 herhalings) getoets (Tabel 2.1). Elke kombinasie van 'n voedingspeil en steriliseringswyse is in een van 18 plastiekhouders voorberei. Die houders is in 'n "Conviroon" groeikabinet gehou vir die duur van die eksperiment. 'n Dag/nag wisseling van 14/10 ure, dag/nag temperature van 18°C/12°C, konstante humiditeit (60%) en ligintensiteit van 60% is deurgaans gehandhaaf.

Vier- en -twintig are van die *Triticale* kultivar "Rex" is in 'n behandeling gebruik. *Triticale* in plaas van koring is in die eksperiment gebruik aangesien kwaai meeldou besmetting onder koring in die glashuise voorgekom het. Die bestaande fungisiede het geblyk om ondoeltreffend te wees. Die plastiekhouders was rond en ongeveer 150mm diep met 'n kapasiteit van 2700 ml, vol gemaak tot 2000ml. Die deksel van elke houer het 48 x 7 mm gate gehad waardeur die are se stele gepas het asook 'n deurlugtingspypie. Die voedingsoplossing is deurlug met behulp van akwariumpompies. Die voedingsoplossing is weekliks vervang om te verhoed dat die vlak te laag val en/of swam of bakteriële groei kan geskied. Die saad is na ongeveer 48 dae geoes en ter vergelyking van behandelings is die aantal sade en 1000-korrel-massa (d.k.m) bepaal.

**Tabel 2.1: Behandelings in die eerste aaroorlewingseksperiment en die samestelling van elke mengsel**

Steriliseringsmiddel		Voedingsoplossing (%) <sup>3</sup>					
Middel	(%)	18.75		12.50		6.25	
Jik <sup>1</sup>	0.125	2.50	Jik	2.50	Jik	2.50	Jik
		375.00	Voeding	250.00	Voeding	125.00	Voeding
Jik <sup>1</sup>	0.250	5.00	Jik	5.00	Jik	5.00	Jik
		375.00	Voeding	250.00	Voeding	125.00	Voeding
Sporekill <sup>2</sup>	0.125	2.50	Sporekill	2.50	Sporekill	2.50	Sporekill
		375.00	Voeding	250.00	Voeding	125.00	Voeding

Aktiewe bestanddele:

<sup>1</sup> Jik: 3.5% Natriumhipochloriet

<sup>2</sup> Sporekill van Hygrotech Saad: Aktiewe bestanddeel val in kwadrinêre ammonium groep

<sup>3</sup> Kynoch Sol-u-fert<sup>a</sup> + Microplex<sup>b</sup> + Kalsiumnitraat<sup>c</sup>

<sup>a</sup> 164g per 100 l H<sub>2</sub>O

<sup>b</sup> 2g per 100 l H<sub>2</sub>O

<sup>c</sup> 77ml per 100 l H<sub>2</sub>O

N 57 g.kg<sup>-1</sup>

Fe 1.68 d.p.m

Ca 180 g.l<sup>-1</sup>

P 27 g.kg<sup>-1</sup>

Mn 0.04 d.p.m

N 125 g.l<sup>-1</sup>

K 25 g.kg<sup>-1</sup>

Zn 0.2 d.p.m

Mg 30 g.kg<sup>-1</sup>

Cu 0.03 d.p.m

S 40 g.kg<sup>-1</sup>

B 0.5 d.p.m

Mo 0.05 d.p.m



## 1.2. Eksperiment 2

In die tweede aaroorlewingseksperiment (faktoriaal) is drie vlakke van voeding en drie steriliserings-behandelings in 4 herhalings vergelyk (Tabel 2.2). Die behandelings is aangepas vanaf die resultate verkry met die eerste eksperiment. Die proef is gedurende Januarie/Februarie uitgevoer in 'n glashuis met 'n dag/nag temperatuur-wisseling van 16°C/12°C. Die humiditeit, dag/naglengte-wisseling en ligintensiteit was ongekontroleerd.

Aangesien 'n geskikte fungisied gevind kon word vir die beheer van meeldou in die glashuise is oorgeskakel na die koringkultivar "SST 57". Die aantal are is verminder na vyftien per bak. Ronde plastiekhouders met 'n kapasiteit van 2000ml en diepte 210mm is in die eksperiment gebruik. In die deksel van elke houer is 17 x 6mm gate geboor vir die are se stele en die lugpypie. Die oplossings is weekliks vervang. Die saad is na 48 dae geoes en ter vergelyking van behandelings is die d.k.m.s bepaal.

**Tabel 2.2: Behandelings in die tweede aaroorlewingseksperiment en die samestelling van elke oplossing**

Steriliseringsmiddel		Voedingsoplossing (%) <sup>3</sup>					
Middel	(%)	20		60		99.75	
Jik <sup>1</sup>	0.250	5.00	Jik	5.00	Jik	5.00	Jik
		400.00	Voeding	1200.00	Voeding	1995.00	Voeding
Sporekil <sup>2</sup>	0.250	5.00	Sporekill	5.00	Sporekill	5.00	Sporekill
		400.00	Voeding	1200.00	Voeding	1995.00	Voeding
Sporekil <sup>2</sup>	0.060	1.20	Sporekill	1.20	Sporekill	1.20	Sporekill
		400.00	Voeding	1200.00	Voeding	1995.00	Voeding

Aktiewe bestanddele:

<sup>1</sup> Jik: 3.5% Natriumhipochloriet

<sup>2</sup> Sporekill van Hygrotech Saad: Aktiewe bestanddeel val in kwadrinêre ammonium groep

<sup>3</sup> Kynoch Sol-u-fert<sup>a</sup> + Microplex<sup>b</sup> + Kalsiumnitraat<sup>c</sup>

<sup>a</sup> 164g per 100 l H<sub>2</sub>O

<sup>b</sup> 2g per 100 l H<sub>2</sub>O

<sup>c</sup> 77ml per 100 l H<sub>2</sub>O

N 57 g.kg<sup>-1</sup>

Fe 1.68 d.p.m

Ca 180 g.l<sup>-1</sup>

P 27 g.kg<sup>-1</sup>

Mn 0.04 d.p.m

N 125 g.l<sup>-1</sup>

K 25 g.kg<sup>-1</sup>

Zn 0.2 d.p.m

Mg 30 g.kg<sup>-1</sup>

Cu 0.03 d.p.m

S 40 g.kg<sup>-1</sup>

B 0.5 d.p.m

Mo 0.05 d.p.m



### 1.3. Eksperiment 3

In die derde eksperiment is slegs 1 voedingsvlak en 'n verdere stel steriliseringsvlakke getoets na aanleiding van die resultate verkry in die tweede eksperiment (Tabel 2.3). Die kultivar "SST 57" is weer gebruik. Vyftien are is per kombinasie getoets in houers identies aan die wat gebruik is in eksperiment 2. Die houers is in 'n "Convion" groeikabinet gehou vir die duur van die eksperiment.

'n Dag/nag wisseling van 14/10 ure, dag/nag temperature van 16°C/12°C, konstante humiditeit (60%) en ligintensiteit van 60% is deurgaans gehandhaaf. Die voedingsoplossing is deurlug met behulp van akwariumpompies. Die oplossing is weekliks vervang. Die saad is na ongeveer 48 dae geoes en die d.k.m. van elke eksperimentele eenheid is bepaal.

**Tabel 2.3: Behandelings in die derde aaroorlewings-eksperiment en die samestelling van die voedingsoplossings**

Steriliseringsmiddel		Voedingsoplossing <sup>3</sup>	
Middel	(%)	20%	
Jik <sup>1</sup>	0.250	5.00	Jik
		400.00	Voeding
Jik <sup>1</sup>	0.050	1.00	Jik
		400.00	Voeding
Jik <sup>1</sup>	0.005	0.01	Jik
		400.00	Voeding
Sporekill <sup>2</sup>	0.060	1.20	Sporekill
		400.00	Voeding
Sporekill <sup>2</sup>	0.006	0.12	Sporekill
		400.00	Voeding
Sporekill <sup>2</sup>	0.001	0.02	Sporekill
		400.00	Voeding
Voedings-kontrole	-	400.00	Voeding
Kontrole	-	2000.00	Water

Aktiewe bestanddele:

<sup>1</sup> Jik: 3.5% Natriumhipochloriet

<sup>2</sup> Sporekill van Hygrotech Saad: Aktiewe bestanddeel val in kwadrinêre ammonium groep

<sup>3</sup> Kynoch Sol-u-fert<sup>a</sup> + Microplex<sup>b</sup> + Kalsiumnitraat<sup>c</sup>

<sup>a</sup> 164g per 100 l H<sub>2</sub>O

<sup>b</sup> 2g per 100 l H<sub>2</sub>O

<sup>c</sup> 77ml per 100 l H<sub>2</sub>O

N 57 g.kg<sup>-1</sup>

Fe 1.68 d.p.m

Ca 180 g.l<sup>-1</sup>

P 27 g.kg<sup>-1</sup>

Mn 0.04 d.p.m

N 125 g.l<sup>-1</sup>

K 25 g.kg<sup>-1</sup>

Zn 0.2 d.p.m

Mg 30 g.kg<sup>-1</sup>

Cu 0.03 d.p.m

S 40 g.kg<sup>-1</sup>

B 0.5 d.p.m

Mo 0.05 d.p.m

#### 1.4. Eksperiment 4

In die vierde eksperiment is 'n spesifieke voedings- en steriliseringsvlak deurgaans gebruik. Vyf verskillende hormoonbehandelings is egter gedoen (Tabel 2.4). Die koringkultivar "SST 57" is gebruik. Vier- en -twintig are is per kombinasie in 'n gerandomiseerde blok getoets. Die 24 are van elke hormoonbehandeling is opgedeel tussen 8 houers met 3 are per behandeling per houer. Elke houer het dus 15 are bevat. Ronde plastiekhouers met 'n kapasiteit van 2000ml en diepte 150mm is in die eksperiment gebruik. In die deksel van elke houer is 32 x 8mm gate geboor vir die are se stele en die lugpypie.

Die oplossings is weekliks vervang. Presies sewe dae na die knip van die are is die hormoonbehandeling ( $\text{GA}_3$  (100mg/l) + 2,4-D (50mg/l)), toegedien. Vyf verskillende vlakke is gebruik: 75-, 50-, 25-, 12.5- en 0 d.p.m. Die halms is in die hormoon geplaas vir 5 ure. Hierna is die halms deeglik afgespoel met gedistilleerde water en terug-geplaas in die houers. Die saad is na 48 dae geoes en ter vergelyking van behandelings is die d.k.m. bepaal.

**Tabel 2.4: Behandelings toegepas in die vierde aaroorlewingseksperiment**

Hormoonbehandeling <sup>1</sup>	Voedingsamestelling
75 d.p.m.	1ml Jik <sup>2</sup> ,
50 d.p.m.	400ml Voeding <sup>3</sup> ,
25 d.p.m..	1599ml Water
12.5 d.p.m.	
Kontrole	

Aktiewe bestanddele:

<sup>1</sup>  $\text{GA}_3$  (100mg/l) + 2,4-D (50mg/l) kombinasie

<sup>2</sup> Jik: 3.5% Natriumhipochloriet

<sup>3</sup> Kynoch Sol-u-fert<sup>a</sup> + Microplex<sup>b</sup> + Kalsiumnitraat<sup>c</sup>

<sup>a</sup> 164g per 100 l  $\text{H}_2\text{O}$

<sup>b</sup> 2g per 100 l  $\text{H}_2\text{O}$

<sup>c</sup> 77ml per 100 l  $\text{H}_2\text{O}$

N 57 g.kg<sup>-1</sup>

Fe 1.68 d.p.m

Ca 180 g.l<sup>-1</sup>

P 27 g.kg<sup>-1</sup>

Mn 0.04 d.p.m

N 125 g.l<sup>-1</sup>

K 25 g.kg<sup>-1</sup>

Zn 0.2 d.p.m

Mg 30 g.kg<sup>-1</sup>

Cu 0.03 d.p.m

S 40 g.kg<sup>-1</sup>

B 0.5 d.p.m

Mo 0.05 d.p.m



## 1.5. Eksperiment 5

In die vyfde eksperiment is dieselfde voedingspeil en steriliseringsmiddel in alle behandelings gebruik terwyl verdere hormoonbehandelings getoets is (Tabel 2.5). Die koringkultivar “SST 57” is gebruik. Die behandelings is in ‘n groeikamer gehou vir die duur van die eksperiment. ‘n Vaste dag/nag temperatuur van 16°C is gehandhaaf met ‘n dag/nag wisseling van 14/10 ure. Die are is in 2 houers (herhalings) geplaas met 6 behandelings per houer. Die houers is identies aan die in eksperiment 2. Vyf are is per behandeling gebruik. Die 6 behandelings 2 verskillende hormoonbehandelings naamlik; dicamba of ‘n mengsel van GA<sub>3</sub>+2,4-D, en 3 toedieningswyses ingesluit. Die voedingsoplossings is deurlug m.b.v. akwarium lugpompies. Een week na knip is die hormoonbehandeling toegepas op die are. Die dicamba (75mg/l) en GA<sub>3</sub> (100mg/l) + 2,4-D (50mg/l) kombinasies op 3 wyses toegedien. Die hormoon is op die blommetjies gedrup, in die halms ingespuut of oor die blommetjies gesproei.

**Tabel 2.5: Behandelings toegepas in die vyfde aaroorlewingseksperiment**

Hormoonbehandeling			Voedingssamestelling
Hormoon	Dosis (d.p.m.)	Toedieningswyse	
GA <sub>3</sub> + 2,4-D <sup>2</sup>	12.5	opgedrup	1ml Jik <sup>3</sup> , 400ml Voeding <sup>4</sup> , 1599ml Water
GA <sub>3</sub> + 2,4-D <sup>2</sup>	12.5	opgespuut	
GA <sub>3</sub> + 2,4-D <sup>2</sup>	12.5	ingespuut	
Dicamba <sup>1</sup>	12.5	opgedrup	
Dicamba <sup>1</sup>	12.5	opgespuut	
Dicamba <sup>1</sup>	12.5	ingespuut	

Aktiewe bestanddele:

<sup>1</sup> Dicamba (75mg/l)<sup>2</sup> GA<sub>3</sub> (100mg/l) + 2,4-D (50mg/l) kombinasie<sup>3</sup> Jik: 3.5% Natriumhipochloriet<sup>4</sup> Kynoch Sol-u-fert<sup>a</sup> + Microplex<sup>b</sup> + Kalsiumnitraat<sup>c</sup><sup>a</sup> 164g per 100 l H<sub>2</sub>O<sup>b</sup> 2g per 100 l H<sub>2</sub>O<sup>c</sup> 77ml per 100 l H<sub>2</sub>ON 57 g.kg<sup>-1</sup>

Fe 1.68 d.p.m

Ca 180 g.l<sup>-1</sup>P 27 g.kg<sup>-1</sup>

Mn 0.04 d.p.m

N 125 g.l<sup>-1</sup>K 25 g.kg<sup>-1</sup>

Zn 0.2 d.p.m

Mg 30 g.kg<sup>-1</sup>

Cu 0.03 d.p.m

S 40 g.kg<sup>-1</sup>

B 0.5 d.p.m

Mo 0.05 d.p.m

Die blommetjies is vooraf oopgeknip vir die opgedrupte en opgespuite toedienings. Slegs 'n eenmalige hormoontoediening is gedoen. Die waterkultuurooplossing is weekliks vervang. Die saad is na ongeveer 48 dae geoes en die d.k.m. van elke eksperimentele eenheid is bepaal.

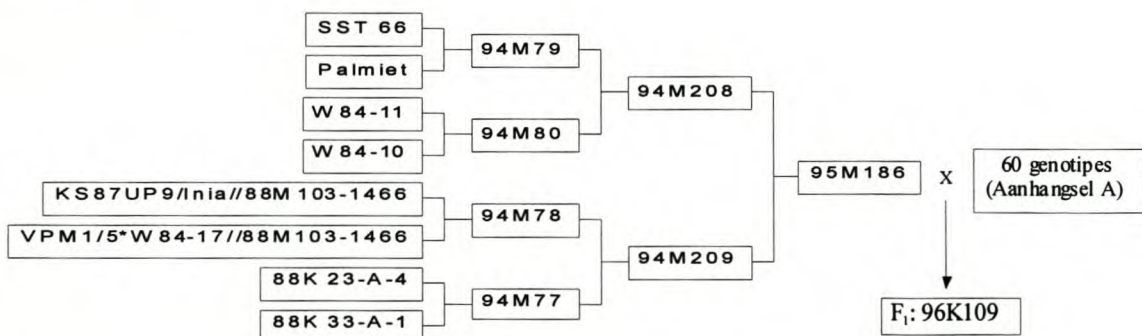
## 2. Onderzoek na genetiese manlike steriliteit

### 2.1. Aanwending van 'n dominante geen vir manlike steriliteit, *Ms3*

#### 2.1.1 Oorsprong en inkorporering

Die aanwinst, KS87UP9, is van Kansas Staatsuniversiteit bekom en het 'n wintertipe groeiwyse. KS87UP9 is gekruis met Inia 66 (lentetipe) en steriele  $F_1$ -plante is toe met die lyn 88M103-1466 (lentetipe) gekruis. Manlik-steriele plante met 'n lente groeiwyse is hieruit geselekteer (kruisingsnommer = 94M63) vir verdere kruisings (Marais 1998, Persoonlike mededeling).

'n Multikruising met 8 koringlyne het hierop gevolg (Fig. 2.2) en oorsprong gegee aan 95M186. Voltooiing van die multikruising het egter saamgeval met die eerste verskyning van streeproes in Suid-afrika in 1996. Omdat daar geen weerstand in die populasie was nie, was dit nodig om weerstandsgene in te voer. Steriele plante uit die  $F_1$ :95M186 is daarom bestuif met stuifmeel vanaf 60  $F_1$ -plante (Aanhangsel A) wat vermoedelik diverse gene vir streeproesweerstand besit. Die  $F_1$  word aangedui met kruisingsnommer 96K109. Die populasie sou na verwagting uit 50% *Msms* (manlik-steriele) en 50% *msms* (manlik-vrugbare) individue bestaan.



**Fig. 2.2: Stamboom van die komplekse kruising, 96K109, waarby 68 kultivars en lyne betrokke was (Marais, 1998 - Persoonlike mededeling)**



### 2.1.2 Ondersoek na die frekwensie kruisbestuiwing onder landtoestande

Gedurende 1999 is 'n  $F_1$ -populasie, 96K109, bestaande uit manlik-vrugbare en -steriele are in die land geplant. Plante is in vier blokke van vier rye elk geplant. Die rye is 30cm uitmekaar gespasieer, met interplantafstande van ongeveer 10cm. Net voor blom is vier manlik-steriele plante lukraak per ry gekies. Ten opsigte van elke manlik-steriele plant is een aar met 'n selofaansakkie bedek, een aar oop gelaat en een aar se kaffies oopgeknip om bestuiwing toe te laat.

Die aantal sade geset per aar is bepaal. 'n Frekwensie verdeling is verkry wat die graad van steriliteit in die vroulike (manlik-steriele) populasie voorstel, asook die graad van natuurlike kruisbestuiwing en die graad van kruisbestuiwing op die oopgeknippte blommetjies.

### 2.2. Bepaling van die chromosoomligging van 'n onbekende, dominante geen vir manlike steriliteit

Die dominante manlike steriliteitsgeen, *Ms3*, is gebruik in die multikruising, 96K109. 'n Verdere bron van dominante manlike steriliteit (95K3) is egter tydens kruisings in 'n roetine-teelprogram ontdek. Die vraag het toe ontstaan of die twee steriliteitsgene allelies is, aldan nie, en wat die chromosoomligging van die onbekende geen is. Uit die literatuur blyk dit dat gene vir manlike steriliteit meesal op chromosoom 4 en 5DL voorkom. Aneuploïede vir die chromosome is daarom met die onbekende bron (95K3) gekruis. Die skema vir die bepaling van die onbekende geen se ligging word in Fig. 2.3 uiteengesit.

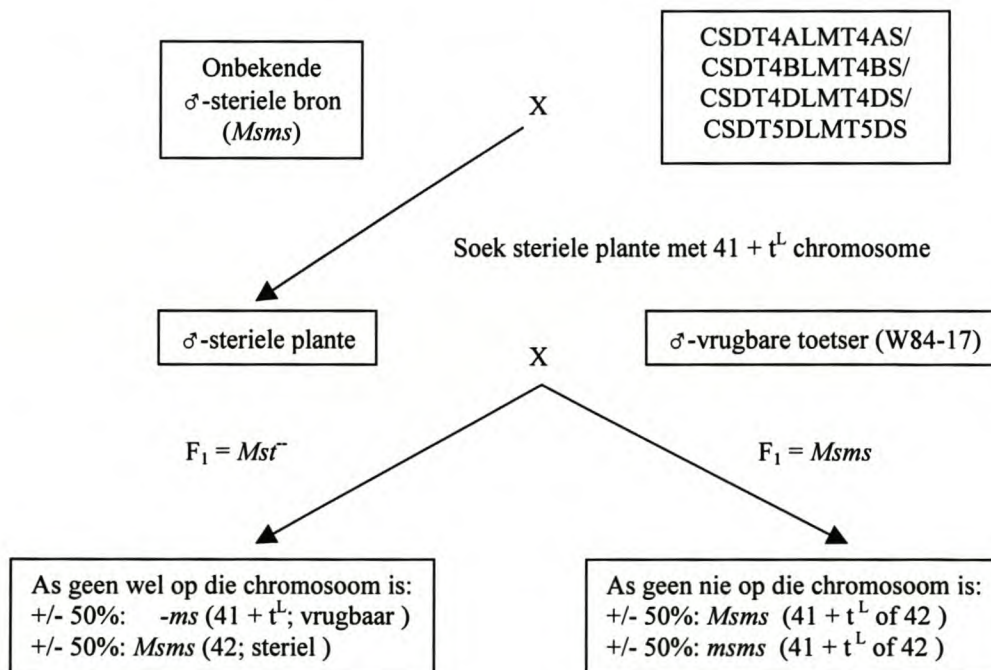
Om te bepaal of die onbekende steriliteitsgeen gesetel is op chromosoomarms  $4A^L$ ,  $4B^L$ ,  $4D^L$  of  $5D^L$ , is manlik-steriele 95K3 plante bestuif met "Chinese Spring" ditelo 4AL monotelo 4AS (CSDT4ALMT4AS), "Chinese Spring" ditelo 4BL monotelo 4BS (CSDT4BLMTBS), "Chinese Spring" ditelo 4DL monotelo 4DS (CSDT4DLMT4DS) en "Chinese Spring" ditelo 5DL monotelo 5DS. Die manlik-steriele  $F_1$ -nageslag is deursoek vir plante met  $41 + t^L$  chromosome.

Indien geskikte  $F_1$ -materiaal beskikbaar is moet dit vervolgens gekruis word met 'n manlik-vrugbare toetser, W84-17. Die  $F_1$ -nageslag ( $41 + t$ ) kan of *Ms*- of *Msms* wees afhangend of die tersaaklike lokus op die betrokke aneuploïede chromosoom voorkom, aldan nie. Indien die geen wel op die aneuploïede chromosoom voorkom, sal die helfte van die



toetskruis  $F_1$ -nageslag 42 normale chromosome besit en manlik steriel (*Msms*) wees. Die res van die populasie sal manlik vrugbaar wees met  $2n=41+t$ . Indien die geen egter nie op die aneuploïede chromosome voorkom nie sal die helfte van die toetskruis  $F_1$ -nageslag *Msms* (50%:  $41+t$  en 50%: 42) wees en die ander helfte *msms* (50%:  $41+t$  en 50%: 42).

Aangesien die vermoedelik, onbekende steriliteitsgeen ook die produk van 'n ongewenste kruisbestuiwing in die glashuis kon wees, is 'n segregasie analise deurgevoer om die 2 bronne van manlike steriliteit met mekaar te vergelyk en te bepaal of dit dieselfde lokus behels. Beide bronne van steriliteit, 95K3 en 96K109, is oor 'n aantal weke geplant, steriele plante is uitgesoek en manlik-vrugbares is verwyder. Die steriele plante van beide bronne is vervolgens teruggeknip. Die 96K109 plante is toe na 'n warm glashuis geskuif om die manlike steriliteit op te hef. Stuifmeel vanaf die 96K109 plante is vervolgens gebruik om steriele 95K3 plante te bestuif.  $F_1$ -saad is verhaal vanaf die 95K3 plante en geplant. Daar kon slegs sade vanaf 3 plante verkry word. Vanaf elke plant is 16 sade geplant teen 4 sade per pot. Tydens blom is die plante geklassifiseer as vrugbaar of onvrugbaar.



**Fig. 2.3: Kruisings om die chromosoomligging van die dominante *Mst*-geen te bepaal**

Die manlik-steriele plante in die groep wat 'n segregasieverhouding naaste aan 3:1 (manlik-steriel:manlik-vrugbaar) gehad het, is toegelaat om te oopbestuif met die manlik-



vrugbares. Nege  $F_1$ -verhaalde  $F_2$ -populasies is op die wyse verkry. Uit elke  $F_2$ -populasie is 40 sade geneem en teen 4 per pot in 10 potte geplant. Die  $F_2$  is gelaat om are te vorm en die aantal manlik-steriele teenoor manlik-vrugbare plante is bepaal.

### **3. Implementering van 'n praktiese werkswyse vir die uitvoer van 'n roetine herhalende seleksieprogram met koring**

'n Werkbare herhalende seleksieprogram met koring moet relatief eenvoudig wees, nie onnodige kapitaal en arbeidsinsette verg vergeleke met 'n standaard teelplan (soos bv. stamboomseleksie) nie, sinvol aansluit by bestaande telings-strategieë en die akkumulering van gesogte gene toelaat.

Hierdie gedeelte van die projek het ten doel gehad om:

- (a) 'n Sisteem te vestig vir die bestuiwing van groot getalle manlik-steriele are met manlik-vrugbare are.
- (b) Voorstelle te ontwikkel vir die praktiese benutting van herhalende seleksie in 'n roetine koringteelprogram.
- (c) 'n Herhalende seleksieprogram vir koring te implementeer en 'n heterogene uitgangspopulasie te vestig.
- (d) 'n Raming te maak van die variasie wat in die uitgangstadia van die program gegenereer is.

Nadere detail van die prosedures wat gevolg is om elk van hierdie doelstellings te bereik word vervolgens verskaf.

#### **3.1. Roetine bestuiwing (in waterkulture) van groot getalle manlik-steriele halms met manlik-vrugbare halms**

Proewe is reeds beskryf om die lewensduur, kwaliteit en opbrengs van gesnyde are wat in kultuur gekweek word te optimiseer. Die doeltreffendste waterkultuuroplossings is vervolgens gebruik om 'n sisteem vir kruisbestuiwing te ontwikkel.

Die vroulike are is vanaf die plante goeos deur dit laer as die laaste lit, en verkieslik laer as die voorlaaste lit af te knip. Op die wyse is verseker dat ten minste die vlagblaar behoue bly. Die halms moet lank genoeg wees wanneer dit gesny word om voorsiening te maak vir



terugknip. Manlik-steriele are is so geknip dat die halms bo die vroulike are kon uittroon vir beter stuifmeelverspreiding. Laasgenoemde word ook van hul blare gestroop omdat die blare doeltreffende stuifmeel verspreiding belemmer en in elk geval nie nodig is vir die oorlewing van manlike halms vir die tydskuur van bestuiwing (3 – 4 dae) nie. Die gesnyde halms is onmiddellik in water geplaas.

Die plastiekhouders waarin die halms gepak is, was rond en ongeveer 150mm diep met 'n kapasiteit van 2700 ml. Die deksel van elke houder het 48 x 7 mm gate gehad waardeur die are se stele gepas het asook 'n deurlugtingspypie. Die voedingsoplossing is weekliks vervang wanneer are teruggeknip is. So kon die hantering van are geminiseer word en die houders met 'n steriliseringsmiddel gewas word vir die verwydering van enige moontlike swamgroeie aan die wande. Die voedingsoplossing is verder deurlug met behulp van akwariuim lugpompies.

Die plastiekhouders hierbo beskryf is gedurende 1998 en 1999 gebruik, maar verbeterings is gedurende 2000 aangebring en 'n groter houder is gemaak vir die manlik-steriele are en 2 kleiner, aparte houders vir die manlik-vruggbare are. Laasgenoemde houders is vervaardig uit gegalvaniseerde staal, 60cm x 8cm x 8cm (3,8 liter), met 63 x 7mm gate in die deksel. Die twee identiese houders, met die manlik-vruggbare are, is aan beide kante van die houder met die manlik-steriele are geplaas op 'n raam wat die manlik-vruggbare are verdere hoogte gee, ongeveer 40cm.

Die hoer vir manlik-steriele are is drasties vergroot om voorsiening te maak vir dreinerings en hervulling. Die houder is uit gegalvaniseerde staal vervaardig, 60cm x 16cm x 45cm (40 liter), met 228 x 7mm gate in die deksel. Aangesien die houders fisies te swaar is om gemaklik rond te skuif, is voorsiening gemaak vir dreinerings deur 'n kraan op die sykant, naby die bodem, te installeer. Vir die gemaklik aanvulling van die voedingsmengsel is 'n inlaat op die sykant, naby die oppervlak, aangebring.

### 3.2. Benutting van manlike steriliteit in herhalende seleksie

'n Voorstelling van hoe 'n herhalende seleksieprogram in die praktyk kan werk word in Fig. 2.4 verskaf. Indien seleksie slegs op voor-blom kenmerke gedoen word kan 'n seleksie en kruisingssiklus in een seisoen afgehandel word. Omdat na-blom eienskappe soos opbrengs, kwaliteit en siekteweerstand van baie groot belang is in koringteelt, is dit egter nodig om die manlik-vruggbare komponent ook hiervoor te evalueer. Om die rede moet 'n



seleksie- en kruisingssiklus dus noodwendig oor meer as 1 seisoen strek. Vir die praktiese deurvoering van 'n herhalende seleksieprogram word seleksie dus op 2 subpopulasies gedoen.

F<sub>2</sub>- (en latere-) populasies afkomstig van saailing-getoetsde manlik-vrugbare F<sub>1</sub>-plante word in die land geplant as gespasieerde enkelplante. Die plante word soos in normale stamboom seleksie (oor 'n aantal generasies) geëvalueer vir agrotipe en siekteweerstand en mettertyd op 'n rybasis vir meelblomekstraksie en miksograaf mengkenmerke. Saad van die uiteindelijke seleksies word benut as manlike ouers in die kruisingsfase. Op hierdie punt kan 'n deel van die saad van voortreflike seleksies verder geëvalueer word. Dit is ook moontlik om nuwe gene in die herhalende-seleksie-populasie in te voer op hierdie stadium. Sulke plante word gewoon by die manlike ouers gevoeg vir die daaropvolgende kruisingsiklus. Nuwe insluitings moet egter versigtig gekies word sodat dit nie die aanpassings- en kwaliteitsbasis wat oor tyd in die herhalende program gevestig word, sal afbreek nie.

'n F<sub>1</sub>-populasie afkomstig van die voorafgaande kruisingsiklus, asook saad van die land-geselekteerde manlike plante, kan nou in 'n groeikamer getoets word vir saailingweerstand teen heersende blaar-, stam- en geelroes-patotipes. Die manlik-steriele plante word in 'n bestuiwersisteem met die land-geselekteerde manlike plante van 'n vroeër seisoen bestuif vir die daarstelling van die nuwe F<sub>1</sub>-populasie. Die manlik-vrugbare F<sub>1</sub>-plante word gelaat om F<sub>2</sub>-saad te produseer vir veldtoetsing in die daaropvolgende seisoen.

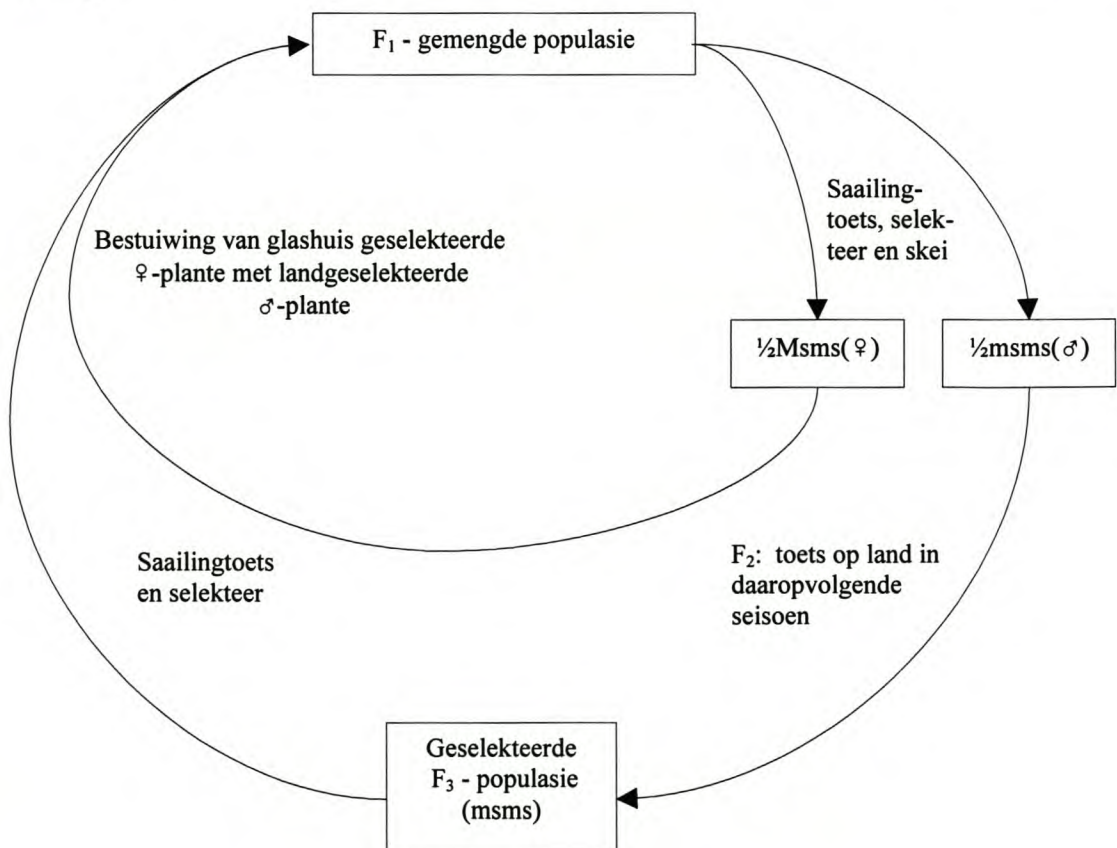
Die uitgangspopulasie vir herhalende seleksie was die heterogene F<sub>1</sub>-populasie (9K109) waarin 'n dominante geen vir manlike steriliteit (*Ms3*) segregeer. In 1998 is daar by vier geleenthede 96K109 F<sub>1</sub>-plante gekweek vir toetsing teen blaar- en/of streeproes. Bestande manlik vrugbare F<sub>1</sub>'s is gebruik om bestande manlik-steriele F<sub>1</sub>'s te bevrug in die bestuiwersisteem. Met elke geleentheid is 'n stel F<sub>1</sub>:96K109 sade geplant (30 potte met 15 plante per pot). Die plante is geïnokuleer en geklassifiseer vir roesweerstand soos beskryf deur McIntosh *et al.* (1995). Na klassifikasie is die plante uitgeplant in 'n glashuis en toegelaat om are te produseer.

Die 1<sup>e</sup>-en 2<sup>e</sup>-stelle is geïnokuleer met blaar-en geelroes. Die urediospore is aangewend d.m.v. 'n sproeikannetjie waarin die spore gesuspendeer is in water met 'n benattingsmiddel (Triton). Die blaarroesspore is eerste opgespuit en direk daarna die streeproesspore. Die potte is individueel toegemaak met nat plastieksakke om die humiditeit hoog te hou. Die plante is vervolgens in 'n inkubasiekabinet by 9°C geplaas en is na 24 uur oopgemaak. Na 'n verdere 3 dae by 9°C is die plante verskuif na 'n groeikamer by 16°C. Roespuisies het ongeveer 10 dae na inokulasie begin ontwikkel. Eerstens blaarroes en geleidelik ook



geelroes. Een- en -twintig dae na inokulasie is die plante geklassifiseer. 'n Afsnypunt vir bestandheid is bepaal en die gekose plante uitgeplant in 'n glashuis. Die plante is gelaat om are te vorm en is ondersoek vir manlike steriliteit. Kruisings is gemaak deur manlik steriele en manlik vrugbare are na die bestuiwers oor te plaas. Voorts is 'n aar op elke plant wat manlik vrugbaar was gemerk en apart gedors vir  $F_2$ -landtoetsing.

Die 3<sup>e</sup>-en 4<sup>e</sup>-herhalings is slegs met blaarroes geïnokuleer omdat toetsing vir beide siektes die saailinge baie verswak het en aanleiding gegee het tot die vorming van minderwaardige plante en are wat kruising bemoeilik het. Na inokulasie met die blaarroes is elke pot individueel toegemaak met nat plastieksakke om die humiditeit hoog te hou na inokulasie. Die plante is hierna in 'n groeikamer by 16°C geplaas en is na 24 uur oopgemaak. Roespuisies het ongeveer 10 dae na inokulasie begin ontwikkel. Die plante is vervolgens op dag 21 geselekteer nadat 'n afsnypunt vir bestandheid bepaal is. Die gekose plante is uitgeplant in 'n glashuis. Die plante is gelaat om are te vorm en is geskei op grond van steriliteit/vrugbaarheid. Manlik-steriele en manlik-vrugbare are is gekruis in die bestuiwersisteem. 'n Aar op elke manlik vrugbare plant is weereens gemerk en gedors vir  $F_2$ -landtoetsing.



**Fig. 2.4: Voorgestelde herhalende seleksie program**



### 3.3. Verbreding van die genetiese basis van die uitgangspopulasie

Ten einde die genetiese diversiteit van die herhalende populasie te vergroot is die bestuiwer populasies in 1999 en 2000 aangevul met enkelplantseleksies uit 'n roetine stamboom seleksieprogram. Die manlik-vrugbare komponente van die bestuiwerpopulasies het as volg daaruit gesien:

#### (a) 1999 Seisoen

- (i) Honderd ses-en-negentig manlik-vrugbare  $F_1$ -plante is in 1998 geselekteer uit 'n gespasieerde landaanplanting van ongeveer 1880 plante uit die kruising 96K109. Die plante is geselekteer op grond van streeproesbestandheid, planthoogte, vroegheid en planttipe. Die geselekteerde plante het uit 3 groepe bestaan nl.; bestand (46), matig bestand (111) en matig vatbaar (37). Slegs die eerste 2 groepe (157) is egter gedurende 1999 as manlike ouer aangewend.
- (ii) Vier-en-veertig agronomies voortreflike plante (Aanhangsel B) met uitstekende siekteweerstand van diverse oorsprong is geselekteer uit die stamboom seleksieprogram. Die plante van die twee manlike bestuiwerpopulasies is vervolgens geselekteer vir hul roesweerstand. Tien sade vanaf elk van die 46  $F_2$ -families uit die "bestande"-groep is geplant. Die "matig bestande"  $F_2$ -families is gebulk en en 480 saailinge uit die bulk is getoets. Tien sade van elk van die 44 agronomies voortreflike plante is getoets.

#### (b) 2000 Seisoen

- (i)  $F_2$ -families is in 1999 as enkelrye van 3m elk in die land geplant. Plante is binne rye gespasieer. Die materiaal is in 304 rye geplant met 36 kontrole rye (9 x Kariëga, -SST 57, -SST 65 en -SST 75). Die kontroles is lukraak geplaas binne die rye. Benewens natuurlike infeksie is 'n mengsel van geelroes-, blaarroes- en stamroes-patotipes kunsmatig gevestig op die vatbare kultivars wat op strategiese posisies tussen blokke geplant is (Tabel 2.6). Visuele seleksie is op enkelplantbasis deurgevoer vir planthoogte, blomdatum en siektebestandheid. Uit elke  $F_2$ -ry waarbinne enkelplante geselekteer is, is 'n lukraak monster gesny vir kwaliteitstoetsing. 'n Enkele aar is van 157 geselekteerde plant gesny.



- (ii) 64 agronomies voortreflike plante met uitstekende siekteweerstand van diverse oorsprong (Aanhangsel C) is geselekteer uit die stamboom seleksieprogram gedurende 1999.

Die plante vanuit die manlike bestuiwerpopulasies is geselekteer vir saailingroesweerstand. Die sade vanaf die land geselekteerde plante is gebulk en 600 saailinge uit die bulk getoets. Tien sade van elk van die 64 agronomies voortreflike plante in 16 potjies geplant.

Beide in 1999 en 2000 is saailinge 10 dae na opkoms geïnokuleer met 'n inokulum-mengsel van blaarroes-patotipes UVPrt2, UVPrt3, UVPrt8, UVPrt9 en UVPrt13 en stamroes-patotipes UVPgt50, UVPgt51, UVPgt52 en UVPgt53. Die plante is vervolgens op dag 21 geklassifiseer nadat 'n afsnypunt vir bestandheid bepaal is. Die geselekteerde plante is na 'n glashuis uitgeplant en gelaat om are te maak. Die are is geknip sodra dit begin stuifmeel stort het en as manlike ouers in die bestuiwersisteem aangewend.

**Tabel 2.6: Lys van vatbare kultivars wat gebruik is as inokulum verspreiders tydens 1999-landaanplanting met die roespatotipes waarvoor die spesifieke kultivar vatbaar is**

Kultivar	Roespatotipes
Inia 66	UVPrt 8, UVPrt 13, UVPgt 50, UVPgt 52
SST 3	UVPgt 50, UVPgt 51, UVPgt 52
94K13	UVPrt 2, UVPrt 3, UVPrt 8, UVPrt 9, UVPgt 51, UVPgt 53
Morocco	6E16, 6E22

In 1999 en 2000 is vroulike populasies as volg verhaal:

(a) 1999 Seisoen

Omdat die gehalte van die  $F_1$ -saad wat in 1998 vanaf 149 vroulike plante geproduseer is swak was, was dit in 1999 nodig om die  $F_1$ -populasie aan te vul met saad van die  $F_1$ :96K109. Ten einde die volume werk eweredig te versprei is die twee stelle  $F_1$ 's afsonderlik geëvalueer vir saailingbestandheid. Die twee groepe bestande  $F_1$ 's is gebruik om vroulike plante daar te stel vir die kruisingsiklus en manlik-vruggbare bronmateriaal vir landtoetsing in 2000.

(b) 2000 Seisoen

$F_1$ -saad wat in 1999 op 448 manlik-steriele are geproduseer is, is geëvalueer vir saailingbestandheid. Die materiaal is in twee stelle gedoen om die werklading te versprei.

Die saailinge is 10 dae na opkoms geïnokuleer met 'n inokulum-mengsel van blaarroes-patotipes UVPrt2, UVPrt3, UVPrt8, UVPrt9 en UVPrt13 en stamroes-patotipes UVPgt50,



UVPgt51, UVPgt52 en UVPgt53. Die plante is vervolgens op dag 21 geklassifiseer nadat 'n afsnypunt vir bestandheid bepaal is. Die geselekteerde plante is in 'n glashuis uitgeplant en gelaat om are te maak. Die vroulike are uit die  $F_1$ -populasie is na die bestuiwersisteem oorgeplaas en bestuif met die manlike are. Die manlik-vrugbare  $F_1$ -plante is gelaat om self te bestuif en die saad is geoes vir  $F_2$ -landtoetsing in 2001.

#### 3.4. Ramings van die genetiese diversiteit binne die uitgangspopulasie op verskillende stadia in die ontwikkeling daarvan

Ramings van die genetiese diversiteit is op twee stadia gedoen.

- (a) Soos onder afdeling 2.3.2 bespreek, is daar in die 1999 seisoen 304  $F_2$ -populasies afkomstig van die 1998  $F_1$ :96K109 as enkelrye op Welgevallen geplant. Hierdie rye is geselekteer vir agronomiese tipe waarna kwaliteitstoetse op 157 geselekteerde rye gedoen is. Hierdie data het 'n goeie beeld gegee van die variasie vir kwaliteitskenmerke wat op daardie stadium binne die populasie voorgekom het.
- (b) Gedurende 2000 is  $F_1$ -saad wat onderskeidelik in 1999 en 2000 met die bestuiwersisteem geproduseer is geneem en geplant vir roestoetse. Die roestoetse is uitgevoer om die vlak van blaar- en stamroesweerstand binne die  $F_1$ -subpopulasies (vir 1999 en 2000) te bepaal. Die blaarroes-patotipes UVPrt2, UVPrt3, UVPrt8, UVPrt9 en UVPrt13 en stamroes-patotipes UVPgt50, UVPgt51, UVPgt52 en UVPgt53 is gebruik vir inokulasies. Drie potte met 20 saailinge per pot is per roespatotipe en populasie kombinasie benut. Die saailinge is 10 dae na opkoms geïnokuleer en op dag 21 geklassifiseer vir roesweerstand soos beskryf deur McIntosh et al. (1995) (Tabel 2.7).

#### 4. Roespatotipes

Gedurende 1998 is  $F_1$ -saailinge getoets met 'n inokulum-mengsel van blaarroes (*Puccinia recondita*, patotipe UVPrt 8) en geelroes (*Puccinia striiformis*, patotipe 6E16). Gedurende 1999 en 2000 is  $F_1$ -saailinge met 'n inokulum-mengsel van blaarroes-patotipes UVPrt 2, UVPrt 3, UVPrt 8, UVPrt 9 en UVPrt 13 en met stamroes- (*Puccinia graminis*) patotipes UVPgt 50, UVPgt 51, UVPgt 52 en UVPgt 53 geïnokuleer.



Die 1998 landaanplanting is nie kunsmatig met roes besmet nie, maar is slegs staatgemaak op natuurlike infeksies. Gedurende 1999 en 2000 is daar benewens natuurlike infeksie, ook gebruik gemaak word van kunsmatige infeksie met geelroespatotipes 6E16 en 6E22, 'n inokulum-mengsel van blaarroes-patotipes UVPrt 2, UVPrt 3, UVPrt 8, UVPrt 9 en UVPrt 13 en met stamroes-patotipes UVPgt 50, UVPgt 51, UVPgt 52 en UVPgt 53. Die blaar- en stamroes-patotipes is verskaf deur prof. Z.A. Pretorius, Departement van Plant Patologie, Universiteit van die Vrystaat. Die geelroes-patotipes is verskaf deur W. Boshof, Kleingraaninstituut, Bethlehem.

## 5. Inokulasies

Stamroes word geïnokuleer en ontwikkel optimaal binne die temperatuurreeks 20 – 25°C. Streeproes word geïnokuleer by ongeveer 9 – 12°C en ontwikkel by 16 - 20°C. Blaarroes kan by enige van die twee temperatuurreekse vestig. Dit is dus teoreties moontlik om (a) plante gelyktydig met blaar- en stamroes te besmet, of (b) om plante gelyktydig met blaar- en streeproes te besmet. Natuurlike besmetting met stamroes geskied ongereeld op Welgevallen. Blaarroes verskyn meer gereeld, maar nie noodwendig in elke seisoen nie, dus maak dit sin om daarvoor gedurende die saailingstadium te toets.

Die urediospore is aangewend d.m.v. 'n sproeikannetjie waarin die spore gesuspendeer is in water met 'n benattingsmiddel (Triton). Die potte is individueel toegemaak met nat plastieksakke om die humiditeit hoog te hou. Vir die ontwikkeling van stam- en blaarroes is die toegemaakte potjies vir 24 uur by 20 - 22°C geïnokuleer (indirekte lig). Hierna is dit oopgemaak en onder ligte geplaas by 20 - 22°C konstante temperatuur (12h lig, 12h donker) totdat simptome voldoende ontwikkel het. Vir die ontwikkeling van streeproes is die potjies in 'n kabinet by 9°C (hoë RH, 12h lig, 12h donker) gehou. Hierna is die potjies verskuif na 'n ligbank by 16°C. Simptome het ongeveer 10 dae later begin ontwikkel. Saailinginfeksietipes is geëvalueer met behulp van die infeksieskale van McIntosh *et al.* (1995) (Tabel 2.7)



**Tabel 2.7 (a)-(b): Klassifikasie van saailing infeksietipes (volgens McIntosh *et al* (1995))****(a) Blaar- en stamroes**

Infeksie tipe	Gasheer reaksie	Simptome
0	Immuun	Geen sigbare uredia
;	Baie bestand	Hipersensitiwiteits vlekke
1	Bestand	Klein uredia gepaardgaande met nekrose
2	Bestand tot matig vatbaar	Klein tot medium uredia
3	Matig vatbaar	Medium grootte uredia
4	Vatbaar	Klein uredia sonder chlorose
X	Bestand	Heterogene uredia, eweredig versprei oor blare

**(b) Geelroes**

Infeksie tipe	Gasheer reaksie	Simptome
0	Immuun	Geen sigbare uredia
;	Baie bestand	Nekrotiese vlekke
;N	Bestand	Nekrotiese areas sonder sporulasie
1	Bestand	Nekrotiese en chlorotiese areas met beperkte sporulasie
2	Matig bestand tot matig vatbaar	Matige sporulasie met nekrose en chlorose
3	Matig vatbaar	Sporulasie met chlorose
4	Vatbaar	Veelvoudige sporulasie sonder chlorose



## 6. Kwaliteitstoetsing

Die miksograaf, 'n registrerende deegmenger, is aangewend vir die evaluasie van koringmonsters verkry uit landtoetsing gedurende 1999. In totaal is 157 rye geselekteer en saam met die 36 kontrole rye geoes vir kwaliteitstoetsing.

### 6.1. Meelblomekstraksie

Alvorens miksograaftoetsing kon geskied moes mikro-koringmonsters eers vermaal word. 'n "Brabender Quadrumat Junior" meul is aangewend vir vermaling van die koringmonsters. Die meul is ingestel op 'n voerspoed van 50g koring per minuut. Voordat die koring gemaal is, is dit eers aangeklam om die semel taai te maak sodat dit nie fyn maal nie. Die "Brabender Quadrumat Junior" meul vereis 'n 14% voginhoud vir optimale werking. Indien die 14% voginhoud oorskry word is die meul geneig om verstop te raak. Die koring se voginhoud is bepaal m.b.v 'n "Crop Moisture detector" (Model G-6C, Delmhorst Instrument Company, Towaco, New Jersey) en die nodige hoeveelheid water is bygevoeg. Die berekening van die hoeveelheid water wat bygevoeg is, is m.b.v die volgende formule uitgevoer:

$$W = \frac{M(14 - V)}{86} \quad (2)$$

waar: W die milliliter water is wat bygevoeg word,

M die massa droë koring is en

V die voginhoud van die droë koring is

Die aangeklamming is in lugdigte houers (1 liter plastiese houers) gedoen deur die berekende hoeveelheid water by te voeg, toe te maak, water deur te skud en aangeklamde koring oornag te laat staan vir vermaling die volgende oggend.

Die aangeklamde koringmonster is in die voerbak van die meultjie gegooi en die meul is aangeskakel. Sodra die voerbak leeg is, is die meul afgeskakel, meelblom wat binne die meul versamel het, uitgeborsel en die meul vir 3 tellings vorentoe, agtertoe en weer vorentoe laat loop. Die semelbak en koniese sif is hierna verwyder. Enige semels of meelblom wat in die koniese sif is, is by die semelbak gevoeg en die massa van die semels tot die naaste 0.1g bepaal. Die meelblombak is ook geneem en die massa van die meelblom bepaal tot die naaste



0.1g. Die meelblom is hierna terug gegooi in die lugdigte houers, waarin aanklamming geskied het.

Die meelblomekstraksie is vervolgens bereken m.b.v die volgende formule:

$$\text{Meelblomekstraksie} \cdot \% = \left( \frac{MB}{S + MB} \right) 100 \quad (3)$$

waar: MB die massa van die meelblom is en

S die massa van die semels is wat verkry is

Die meelblom is hierna aangewend vir miksograaftoetsing.

## 6.2. Miksograaftoetsing

‘n “National Swanson” miksograaf is gebruik vir die uitvoer van miksograaftoetsing volgens die voorskrifte van die “American Association of Cereal Chemists” (1976).

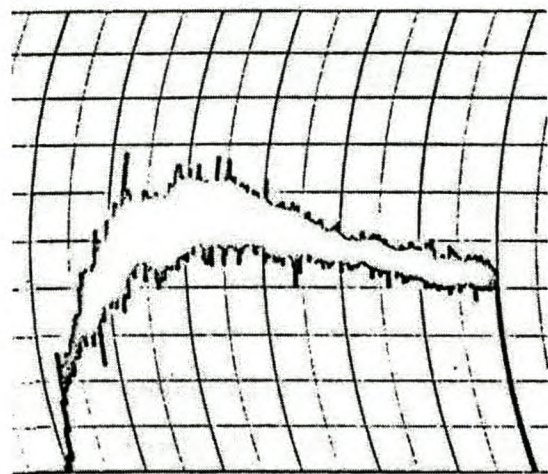
Die miksograaf is aangeskakel en gelaat sodat die temperatuur van die kabinet kon styg tot  $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ . Die mengbakke is ook in die kabinet geplaas sodat hulle dieselfde temperatuur kon handhaaf. Vervolgens is 21ml gedistilleerde water in 50 ml bekere afgemete en ook in die kabinet geplaas sodat dit ook op temperatuur kon kom. Die registrerende pen is op die nullyn en op ‘n vertikale lyn geplaas, 35g meelblom in ‘n mengbak afgemete, ‘n holte in die middel van die meelblom gemaak, 21ml gedistilleerde water begevoeg en die mengbak op die mengbaksaal geplaas en vas geklamp. Die tydhorlosie is op 6 minute gestel en die menger en papier aandryfmotor aangeskakel. Die sisteem skakel dus outomaties na 6 minute af en die mengkop is opgelig en die deeg verwyder. Die horlosie is weer aangestel tot op 2 minute en papier toegelaat om aan te loop. ‘n Aantekening is naas elke miksograafkromme gemaak vir latere vertolking.

Vertolking van die miksograafkromme het hierna geskied. Verskeie metings is en kan uitgevoer word.

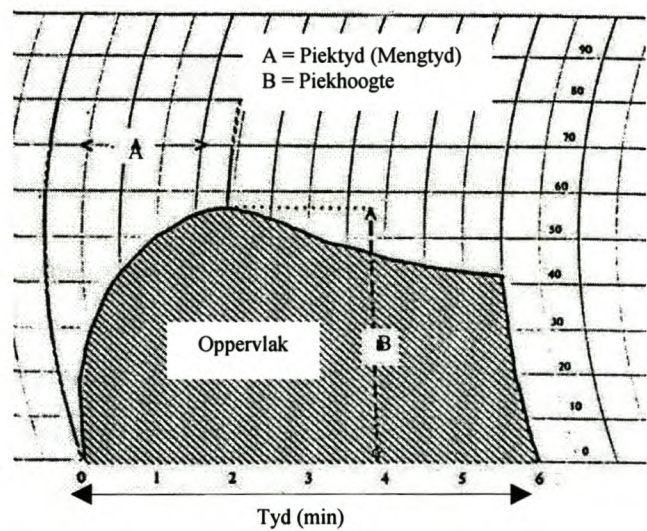
- (a) Piekhoogte van die miksogram gee ‘n maatstaf van die deegstyfheid en is dus gekorreleer met waterabsorpsie van die meelblom. Die bepaling van piekhoogte is uitgevoer deur die afstand (in mm) vanaf die middelpunt van die kromme tot op die basislyn te meet.
- (b) Piektyd is ‘n indikasie van ‘n deeg se optimum mengtyd en is gemeet as die tyd wat verloop vanaf die begin van meng tot by die maksimum hoogte (piektyd) van die kromme.



**Fig. 2.5 (a)-(b): ‘n Voorbeeld van ‘n tipiese miksograaf-kromme (a) en die onderskeie metings wat uitgevoer is (b)**



**(a) Tipiese miksogram**



**(b) Tipiese miksogram met die onderskeie metings**



## Hoofstuk 3: Resultate en bespreking

### 1. Aaroorlewingseksperimente

In 'n poging om 'n aanduiding te verkry van watter kondisies nodig is vir die verbouing van are in 'n waterkultuur is sekere aannames gemaak t.o.v. belugting, beligting en voedingsbehoefte. Die voedingsbehoefte is die groter probleem aangesien die plantvoedingsmengsel vatbaar is vir swamgroeï wat die opname van voedingstowwe kan belemmer. Gevolglik is 'n steriliseringsmiddel nodig om swamgroeï binne die voedingsoplossing te inhibeer.

#### 1.1. Eksperiment 1

Die eerste eksperiment was 'n 3 x 3 faktoriale ontwerp met 2 herhalings. Die are is aan 9 behandelings (18 houer) onderwerp en is na 48 dae geoes, gedroog en die duisend-korrel-massa (d.k.m.) per houer is bepaal. Die "General Linear Model" (GLM) prosedure van SAS is gebruik vir analise van variansie met blokke (herhalings) en behandelings wat as bronne van variasie onderskei is.

Ondersoek van die behandelings toon dat daar t.o.v. die steriliseringsmiddels 'n duidelike onderskeid getref kan word tussen Sporekill en Jik ( $P = 0.0016$ ). Die ANOVA toon ook verder dat die 0.250% Jik toediening swakker vertoon as 0.125% Jik ( $P = 0.0825$ ). D.k.m. is skynbaar liniêr (positief) gekoppel aan voedingsvlakke ( $P = 0.0689$ ) en daar is ook liniêre interaksie tussen steriliserings- en voedingsvlakke ( $P = 0.0697$  en  $0.0631$ ).



**Tabel 3.1: Gemiddelde d.k.m. (g) in die eerste aaroorlewingseksperiment met die *Triticale* kultivar “Rex”**

Voedingsoplossing	Steriliseringsmiddel			sf.*
	Jik 0.125%	Jik 0.250%	Sporekill 0.125%	
18.75%	30.455	26.825	24.425	0.485
12.50%	28.060	27.613	24.930	0.485
6.25%	26.185	26.180	25.0150	0.485
sf.*	0.841	0.841	0.841	

\*Standaardfout vir 95% vertroubaarheids interval

**Tabel 3.2: ANOVA vir ontleding van die d.k.m. van die eerste aaroorlewingseksperiment**

Bron van variasie	Vg	GK	P
Blokke	1	3.2343	0.1688
Behandelings:			
Voedingsvlakke			
Voeding (liniêr)	1	6.2352	0.0689
Voeding (kwadraties)	1	0.4970	0.5695
Steriliseringsmiddels:			
Jik 0.125% vs. Jik 0.250%	1	5.5624	0.0825
Sporekill 0.125% vs (Jik 0.125% + Jik 0.250%)	1	30.5256	0.0016
Interaksies:			
V (l) x Jik 0.125% vs. Jik 0.250%	1	6.5703	0.0631
V (l) x Sporekill 0.125% vs (Jik 0.125% + Jik 0.250%)	1	6.1915	0.0697
V (k) x Jik 0.125% vs. Jik 0.250%	1	1.2467	0.3751
V (k) x Sporekill 0.125% vs (Jik 0.125% + Jik 0.250%)	1	0.0406	0.8696
Fout	8	1.4130	

Koëffisiënt van variasie = 8.71%



Alhoewel die klassifikasie van P-waardes in die literatuur dikwels aan die hand van 'n enkele afsnypunt soos 0.05 geskied, is dit 'n abritêre waarde. Die keuse van die P-waarde moet egter versigtig bepaal word deur die risiko wat die navorser kan bekostig sou 'n foutiewe gevolgtrekking gemaak word op te weeg. In die betrokke studie word voorgestel dat 'n P-waarde van tot en met 0.1 steeds as sterk getuigenis teen die nulhipotese beskou word.

Die statisties geïllustreerde afleidings dat 0.125% Jik en 18.75% voedingsvlak die "beste" resultate oplewer (Tabel 3.2) stem ooreen met visuele waarnemings tydens die uitvoer van die eksperiment. Die vlagblaar is belangrik vir die koringaar en die bewaring daarvan dus noodsaaklik. Die vlagblaar tree op as 'n setel van fotosintese en voedselstoor. Die Sporekill vorm baie skuim wanneer lug daar deur geborrel word. Die skuim mag die opname van water en voedingstowwe belemmer en veroorsaak dat die vlagblaar vroeër verbruin. Hoë Jik konsentrasies het ook skade aan die are veroorsaak. Die halms het verbleik en begin pap raak, maar weens die weeklikse terugknip van die are kon skade beperk word.

## 1.2. Eksperiment 2

Aangesien Sporekill so 'n effektiewe swamdoder is, is 2 laer vlakke, 0.060% en 0.125%, aangewend. Die Jik 0.125% is weereens gebruik. Die voedingsvlakke is verhoog na 20, 60 en 99.75%. Die eksperiment is uitgevoer as 'n 3 x 3 faktoriale ontwerp met 4 herhalings. Die are is weereens na 48 dae geoes, die saad gedroog en d.k.m. bepaal.

Die GLM prosedure van SAS is gebruik vir die uitvoer van 'n ANOVA met blokke (herhalings) en behandelings (behandelingskombinasies) as bronne van variasie (Tabel 3.4). Die blokke komponent bied baie min getuigenis teen  $H_0$  ( $P = 0.2273$ ) en hul effektiwiteit om die variasie binne die eksperiment te verminder moet dus in twyfel getrek word. Die proef is in 'n glashuis uitgevoer en wisseling in ligintensiteit en humiditeit was dus ongekontroleerd. Hoewel groot sorg aan die dag gelê is tydens die sny van are het klein variasies in blomdatums wel voorgekom. Hierdie variasies het egter al vier blokke geïmmuniseer.

Die Sporekill teenoor Jik vergelyking het 'n P-waarde van 0.0001 opgelewer en bevestig dat Jik betekenisvol beter resultate gee. Die 0.060% Sporekill teenoor 0.125% Sporekill vergelyking ( $P = 0.0090$ ) dui daarop dat die laer toedieningsvlak beter resultate gee. Die d.k.m. van die behandelings word weergegee in Tabel 3.3. Die voedingsvlak was weer liniêr gekorreleerd met d.k.m., maar anders as eksperiment 1 was die verwantskap negatief en het



die laagste voedingspeil die beste resultaat gegee. Daar was geen betekenisvolle interaksie nie.

**Tabel 3.3: Gemiddelde d.k.m. (g) in die tweede aaroorlewingseksperiment met die koringkultivar “SST 57”**

Voedingsoplossing	Steriliseringsmiddel			sf.*
	Sporekill 0.060%	Sporekill 0.125%	Jik 0.125%	
20%	15.743	14.910	20.047	0.380
60%	14.634	13.118	17.225	0.380
99.75%	13.680	11.443	15.361	0.380
sf.*	0.659	0.659	0.659	

\*Standaardfout vir 95% vertroubaarheids interval

**Tabel 3.4: ANOVA vir ontleding van die d.k.m. van die tweede aaroorlewingseksperiment**

Bron van variasie	Vg	GK	P
Blokke	3	2.6908	0.2273
Behandelings:			
Voedingsvlakke			
Voeding (liniêr)	1	69.5437	0.0001
Voeding (kwadratiese)	1	0.3351	0.6643
Steriliseringsmiddels:			
Sporekill 0.060% vs. Sporekill 0.125%	1	14.0286	0.0090
Jik 0.125% vs (Sporekill 0.060% + Sporekill 0.125%)	1	105.0356	0.0016
Interaksies:			
V (l) x Sporekill 0.060% vs. Sporekill 0.125%	1	1.9642	0.2980
V (l) x Jik 0.125% vs (Sporekill 0.060% + Sporekill 0.125%)	1	4.9229	0.1051
V (k) x Sporekill 0.060% vs. Sporekill 0.125%	1	0.0005	0.9862
V (k) x Jik 0.125% vs (Sporekill 0.060% + Sporekill 0.125%)	1	0.3016	0.6805
Fout	24	1.7358	

Koëffisiënt van variasie = 8.71 %



Die waargenome effekte van die onderskeie behandelingskombinasies stem weereens ooreen met die statistiese gevolgtrekking uit die ANOVA. 'n Voedingsvlak van 20% blyk optimaal te wees terwyl die 60 en 99.75% voedingsvlakke aanleiding gegee het tot oormatige swamgroei. Die Sporekill het weer tot skuimvorming aanleiding gegee en skade aan die are veroorsaak. Die 0.125% Jik het ook waarneembare skade aan die halm veroorsaak, met die effek wat toeneem soos die are ouer word. Die weeklikse terugknip het egter weefsel-skade redelik beperk.

### 1.3. Eksperiment 3

Hoewel 'n voedingsvlak van 20% goeie resultate gegee het, is geen kontrole-groep (geen voeding) ingesluit by die voorafgaande eksperimente nie. Die voedingsvlak is vir die doel van eksperiment 3 konstant gehou op 20% en behalwe vir die vergelyking van Sporekill en Jik by 3 vlakke is twee kontroles ingesluit. Die voedingskontrole het geen steriliseringsbehandeling ontvang nie en die ander kontrole het geen behandeling ontvang nie, slegs water.

Die are is soos voorheen gelaat om ryp te word en na 48 dae is die d.k.m. bepaal. Die ANOVA is uitgevoer m.b.v. die GLM prosedure van SAS en kontraste is opgestel wat sou aandui watter steriliseringsmiddel die "beste" is en of die kontroles betekenisvol verskil. Uit die ANOVA (Tabel 3.6) kon afgelei word dat die voedingskontrole teenoor die skoon water kontrole ( $P = 0.0919$ ) betekenisvol verskil, maar selfs die  $P$ -waarde is 'n grensgeval. Die ander kontraste het ook nie op beduidende verskille gedui nie. Nadere ondersoek toon dat die koëffisiënt van variasie 24.38% is. Die relatief hoë koëffisiënt van variasie en die hoë gepaardgaande standaardfoute gee 'n aanduiding dat die resultate minder betroubaar is as die van die vorige proewe.

Die vraag het dus gedeeltelik onbeantwoord gebly en kortskiettoetsing is uitgevoer m.b.v. die PROBMC funksie van SAS. Kortskiettoetsing is 'n statistiese tegniek wat benut word wanneer die gemiddelde prestasie van 'n groep inskrywings vergelyk word met die doel om die vraag te beantwoord: Watter een of meer van die inskrywings kan as die "beste" binne die betrokke groep beskou word? Die uitslag van die kortskiettoetsing word weergegee in Tabel 3.7 en dui daarop dat die drie Jik behandelings die "beste" gevaar het. Die Sporekill behandelings het beter gevaar as die kontroles wat die laagste betekenispeile (BPe) gehad het. Die kontrole behandelings het dus betekenisvol ( $BP = 0.0484$  en  $0.0007$ ) kort geskiet by die behandeling met die hoogste gemiddelde (0.05% Jik).



Visuele waarnemings tydens die eksperiment het met die statistiese ontledings gekorreleer. Die afname in d.k.m met die insluiting van Sporekill was te wagte en kan verklaar word aan die hand van skuimvorming. Die 0.006% Sporekill het egter goeie resultate gelever met min skuimvorming en goeie swamgroeï inhibering. Die 0.001% Sporekill het amper geen skuimvorming getoon nie, maar was oneffektief as swamgroeï inhibeerder.

Jik het swamgroeï swak beheer by 0.005% terwyl 0.125% meer verbleiking veroorsaak het. Die beste steriliseringmiddel was dus 0.050% Jik. Die kontrole behandelings het gepaard gegaan met hewige swamgroeï en verswakte saadvorming. Die voedingskontrole het veral baie swamgroeï gehad terwyl die vlagblaar van die kontrole-behandeling (skoon water) redelik vroeg begin verbruin en afgesterf het. Die kontrole-behandelings het dus duidelik getoon dat die aar wel 'n voedingsbehoefte het, maar dat die voedingsoplossing alleen nie optimale aaroorlewing verseker nie. Die inhibering van swamgroeï is ook belangrik.

**Tabel 3.5: Gemiddelde d.k.m. (g) in die derde aaroorlewingseksperiment met die koring kultivar “SST 57”**

Middel	Jik				Sporekill		Kontrole	
Vlak	0.125%	0.050%	0.005%	0.060%	0.006%	0.001%	Voeding	Water
d.k.m.	24.949	25.332	23.165	19.550	22.066	22.284	16.605	10.568
Sf.*	2.507	2.507	2.507	2.507	2.507	2.507	2.507	2.507

\*Standaardfout vir 95% vertroubaarheids interval

**Tabel 3.6: ANOVA vir ontleding van die d.k.m. van die derde aaroorlewingseksperiment**

Bron van variasie	Vg	GK	P
Behandelings:			
Sterilisering vs Kontrole	1	7.5690	0.5883
Jik vs Sporekill	1	30.4088	0.2824
Voedingskontrole vs Waterkontrole	1	77.5075	0.0919
Res	4	33.3100	
Fout	24	1.7358	

Koëffisiënt van variasie = 24.38%



**Tabel 3.7: Kortskiettoetsing van d.k.m vir die derde aaroorlewingseksperiment**

Behandeling	Gemiddelde	Kortval	Betekenispeil
Jik 0.125%	24.95	0.1081	0.8459
Jik 0.050%	25.33	-0.1081	0.9000
Jik 0.005%	23.17	0.6110	0.6596
Sporekill 0.060%	19.55	1.6308	0.2191
Sporekill 0.006%	22.07	0.9211	0.5166
Sporekill 0.001%	22.28	0.8595	0.5457
Voedingskontrole	16.61	2.4612	0.0484
Waterkontrole	10.57	4.1638	0.0007

Standaardfout van 'n behandelingsgemiddelde = 5.014 gebaseer op 32 vryheidsgrade

#### 1.4. Eksperiment 4

Weens die feit dat die steriliserings- en voedingsmiddels gedurende eksperiment 3 tot 'n mate geoptimeer is en sodeer steeds klein was, met 'n lae d.k.m., is hormoonbehandeling beproef. 'n Kombinasie van GA<sub>3</sub> en 2,4-D soos gebruik in die haploïede tegniek (Pienaar *et al.*, 1997) is beproef. Die hormoontoediening is gedoen by 4 verskillende vlakke (75, 50, 25 en 12.5 d.p.m.) en 'n kontrole is ook ingesluit. Die betrokke hormone is toegedien deur die halms vir 5 ure in 'n hormoonoplossing te plaas. Die voedingsmengsel het bestaan uit 'n 20% voedingsoplossing en 0.050% Jik.

Die are is na 48 dae verwyder uit die waterkulture en die d.k.m. bepaal vir die onderskeie behandelings. Die GLM prosedure van SAS is aangewend om 'n ANOVA op te stel en kontraste binne die ANOVA te bewerkstellig (Tabel 3.8 en 3.9). Hierdie proef het ook 'n relatief hoë koëffisiënt van variasie getoon (17.99 %) en daar was geen betekenisvolle verskille tussen die verskillende behandelings nie ( $P = 0.7193$ ). 'n Alternatiewe analise van data is dus uitgevoer deur gebruik te maak van kortskiettoetsing. Die PROBMC funksie van SAS is aangewend hiervoor (Tabel 3.10). Kortskiettoetsing het getoon dat die 12.5 d.p.m. hormoonbehandeling die "beste" resultate gegee het met 'n BP van 0.9333.



**Tabel 3.8: Gemiddelde d.k.m. (g) in die vierde aaroorlewingseksperiment met die koringkultivar “SST 57”**

Vlak	Hormoontoediening				
	75 d.p.m.	50 d.p.m.	25 d.p.m.	12.5 d.p.m.	Kontrole
d.k.m.	23.605	25.152	25.908	27.493	18.464
sf.*	1.535	1.535	1.535	1.535	1.535

\*Standaardfout vir 95% vertroubaarheids interval

**Tabel 3.9: ANOVA vir ontleding van die d.k.m. van die vierde aaroorlewingseksperiment**

Bron van variasie	Vg	GK	P
Behandelings	4	9.8663	0.7193
Fout	35	18.8561	

Koëffisiënt van variasie = 17.99 %

**Tabel 3.10: Kortskiettoetsing van d.k.m in die vierde aaroorlewingseksperiment**

Behandeling	Gemiddelde	Kortval	Betekenispeil
75 d.p.m.	23.61	1.7908	0.0985
50 d.p.m.	25.15	1.0784	0.2967
25 d.p.m.	25.91	0.7303	0.4405
12.5 d.p.m	27.49	-0.7303	0.9333

Standaardfout van ‘n behandelingsgemiddelde = 4.342 gebaseer op 32 vryheidsgrade

### 1.5. Eksperiment 5

In 'n poging om die d.k.m. verder te verhoog, maar terselfdertyd die hantering van die are te verminder is 'n alternatiewe hormoonbehandeling (dicamba) en toedieningswyse aangewend in eksperiment 5. Die blommetjies is vir twee van die toediengswyses oopgeknip. Die hormoon is hierna oor die hele aar gesprei of op die blommetjie gedrup. Die derde behandeling het behels dat die hormoon direk in die aarsteel ingespuut is. Die hormoontoedienings was Dicamba en  $GA_3 + 2,4-D$ .

Die are is net soos voorheen vir 48 dae in die waterkulture gelaat, geoes en uitgedors. Die d.k.m. is hierna bepaal vir die onderskeie behandelings. Die GLM prosedure van SAS is gebruik vir die opstel van 'n ANOVA (Tabel 3.11 en 3.12). Die ANOVA het eerstens getoon dat dicamba 'n swakker kandidaat as die  $GA_3 + 2,4-D$ -kombinasie was. Die rede kan dalk wees dat die dicamba dosis te hoog was (dicamba het bv. 'n beter regeneratiewe werking as 2,4-D en het teen dosisse so laag as 0.02 mg/l dieselfde effektiwiteit getoon as 2,4-D by 0.1 mg/l (Bahieldin *et al.*, 2000)).

Rakende die wyse van toediening was daar 'n betekenisvolle verskil tussen die "inspuut teenoor opgedrup of opgesproei"-toedieningsmetodes met 'n P-waarde van 0.0171. Daar was geen betekenisvolle verskil tussen die "opdrup teenoor opsproei"-toedieningswyses nie ( $P = 0.3926$ ).

Groter sukses met die opdrup en opsproei wyses kan daaraan toegeskryf word dat dit die hormoon direk met die sade in aanraking bring. Die onderskeid tussen watter een van die metodes die effektiwiefte is, is egter moeilik en uit 'n praktiese oogpunt is die opsproei minder arbeidintensief. Die voordeel aan die hormoontoediening is egter nie so groot as verwag nie. Die d.k.m. het wel verhoog na 34.16g teenoor die d.k.m. van 25.33g wat sonder die hormoontoediening behaal kon word. Die kleiner sade se ontkiemings persentasie was ongeveer 90% en hoewel klein was hul kiemkragtigheid dus voldoende. Die ekstra koste en arbeid verbonde aan hormoontoediening is dus nie die moeite werd nie. Die hormoontoediening bied die verdere risiko dat dit kan aanleiding gee tot die ontwikkeling van onbevrugte embryos.



**Tabel 3.11: Gemiddelde d.k.m. (g) in die vyfde aaroorlewingseksperiment met die koringkultivar “SST 57”**

Hormoon	Toediening			sf.*
	Ingespuit	Opgesproei	Opgedrup	
GA <sub>3</sub> + 2,4-D	30.367	34.160	32.944	0.640
Dicamba	26.239	28.136	29.282	0.640
sf.*	1.109	1.109	1.109	

\*Standaardfout vir 95% vertroubaarheids interval

**Tabel 3.12: ANOVA vir ontleding van die d.k.m. van die vyfde aaroorlewingseksperiment**

Bron van variasie	Vg	GK	P
Blok	1	0.2269	0.7735
Behandelings:			
Hormoon: GA <sub>3</sub> + 2,4-D vs Dicamba	1	84.7689	0.0020
Toedieningswyse:			
Opgedrup vs Opgespuit	1	2.1497	0.3926
Ingespuit vs (Opgedrup + Opgespuit)	1	30.2738	0.0171
Interaksie: Hormoon x Toedieningswyse	2	1.0885	0.6652
Fout	24	1.7358	

Koëffisiënt van variasie = 5.13 %

## 2. Onderzoek na genetiese manlike steriliteit

### 2.1. Onderzoek na die frekwensie kruisbestuiwing onder landtoestande vir *Ms3*

'n Proef is gedoen om vas te stel tot watter mate plante met *Ms3* op natuurlike wyse kruisbestuif onder lantoeestande. 'n Totaal van 64 manlik-steriele plante uit 4 blokke is elk aan drie behandelings onderwerp en uiteindelik is die persentasie saadset bereken (Tabel 3.13). ANOVA van die data is uitgevoer om standaardfoute te beraam en verskyn in Tabel 3.14(a)-(c).

Oopgeknippte, onbedekte blommetjies het effektief kruisbestuif onder landtoestande en het 'n gemiddelde van  $90.02 \pm 1.011\%$  saadset gehad. Die hoë frekwensie saadset kan moontlik toegeskryf word aan optimale omgewingstoestande en koel weer ten tye van blom wat verhoed het dat die stempels uitdroog. Die tweede behandeling, bedekte blommetjies, het 'n saadset van  $5.00 \pm 0.701\%$  gehad. Die saadset kan toegeskryf word aan onvolledige penetrasie van die *Ms3* geen. Die onbehandelde are het 'n saadset van  $14.70 \pm 0.982\%$  gehad. Die frekwensie kruisbestuiwing van onbehandelde are is dus ongeveer 10 % en nagenoeg een derde van sade geproduseer op die manlik-steriele are kan toegeskryf word aan selfbestuiwing.

**Tabel 3.13: Persentasie saadset verkry tydens die ondersoek na die frekwensie kruisbestuiwing onder landtoestande**

Blok	Behandeling		
	Oopgeknip	Geen behandeling	Toegemaak
1	90.31	14.85	4.58
2	91.09	11.89	4.79
3	88.82	13.47	4.12
4	86.05	17.50	6.41
Gemiddeld	90.02	14.70	5.00
sf.*	1.011	0.982	0.701

\*Standaardfout vir 95% vertroubaarheids interval



**Tabel 3.14(a)-(c): ANOVA vir die ontleding van die variasie in persentasie saadset****(a) Toegemaak**

Bron van variasie	vg	GK	P
Blok	3	3.8920	0.1711
Fout	60	1.9675	

Koëffisiënt van variasie = 28.16 %

**(b) Oopgeknip**

Bron van variasie	vg	GK	P
Blok	3	3.2219	0.5237
Fout	60	4.0909	

Koëffisiënt van variasie = 2.25 %

**(c) Geen behandeling**

Bron van variasie	vg	GK	P
Blok	3	28.6342	0.0045
Fout	60	3.8572	

Koëffisiënt van variasie = 13.40 %

**Fig. 3.2 (a)-(b): 'n Totaal van 64 manlik-steriele plante uit 4 blokke (a) is elk aan 3 behandelings onderwerp (b) vir die bepaling van frekwensie natuurlike kruisbestuiwing onder landtoestande**



**(a) Blok van 16 rye**



**(b) Naderskoot**



## 2.2. Bepaling van chromosoomligging van 'n onbekende, dominante geen vir manlike steriliteit

Om die chromosoomligging van die onbekende manlike steriliteitsgeen te bepaal is daar van aneuploïede gebruik gemaak. Sekere chromosoomarms is geteiken vir die ondersoek na aanleiding van die ligging van ander bekende steriliteitsgene. Om te bepaal of die onbekende steriliteitsgeen op die chromosoomarms 4AL, 4BL, 4DL of 5DL gesetel is, is manlik-steriele 95K3 plante bestuif met “Chinese Spring” ditelo 4AL monotelo 4AS (CSDT4ALMT4AS), “Chinese Spring” ditelo 4BL monotelo 4BS (CSDT4BLMT4AS), “Chinese Spring” ditelo 4DL monotelo 4DS (CSDT4DLMT4DS) en “Chinese Spring” ditelo 5DL monotelo 5DS (CSDT5DLMT5DS). Die manlik-steriele  $F_1$ -nageslag is deursoek vir plante met  $41+t^L$  chromosome. Slegs een sodanige plant kon egter uit 'n nageslag van 125 plante gevind word (Tabel 3.15).

Die poliploïede aard en triplikasie van genetiese inligting in broodkoring maak dit verdraagsaam vir aneuploïdie. Die homoeoloë genome kan kompenseer vir die gebrek aan chromosoomsegmente of selfs vir die verlies van totale chromosome (Worland *et al.*, 1985). Die transmissie van telosentriese chromosome in plante varieer met die telosoom betrokke. Alhoewel die transmissie deur ei-selle normaal geskied sal stuifmeel met 'n telosentriese chromosoom 'n agterstand hê t.o.v. kompetisie met normale gamete (Lukaszewski, 1991). Na verwagting moet 95K3 normale gamete ( $n = 21$ ) met meiose produseer. 'n Aneuploïed met  $2n = 40 + 2t^L + 1t^S$  word verwag om hoofsaaklik gamete met  $n = 20 + 1t^L + 1t^S$  en  $n = 20 + 1t^L$  te produseer. Nie-disjunksie kan ook aanleiding gee tot gamete met  $n = 20$  en  $n = 20 + t^S$ , maar sodanige gamete sal teen 'n baie lae frekwensie gevorm word. Indien die aneuploïed as manlike ouer gebruik word sal daar 'n relatief hoë transmissie van  $n = 20 + 1t^L + 1t^S$  gamete geskied. Die  $F_1$  word dus verwag om hoofsaaklik uit  $2n = 41 + 1t^L + 1t^S$  en  $2n = 41 + 1t^L$  (laer frekwensie) individue te bestaan. Die verkreë  $F_1$ -data is nie in ooreenstemming met hierdie verwagting nie. Vyf- en -sestig van die 66  $F_1$ -plante wat telosome besit het, het drie of meer besit. Die addisionele telosome moes dus vermoedelik van 95K3 afkomstig wees.

Nadere ondersoek na die oorsprong van 95K3 het daarop gedui dat die lyn die volgende stamboom het: CS-*Lr19/6*\*W84-17//Blou CS/2\*W84-17. Blou CS is 'n (4B)4A<sup>u</sup> substitusielyn verkry vanaf Duitsland. Die sitologiese stabiliteit van die lyn is onbekend (Zeller *et al.*, 1991).



Blou CS besit dus 'n *T.urartu* substitusie vir chromosoom 4B. Wilson *et al.* (1983) het gevind dat nuwe *mst* mutante by voorkeur op chromosome 4A, 4B, 5A, 5B en 5D ontstaan. Nullisome vir hierdie chromosome is normaalweg *mst*, een ditelosentriese tipe is *mst* en die alternatiewe ditelosentriese tipes is *mft*. Delesie van 'n segment vanaf die kritiese chromosoomarm kan dus aanleiding gee tot *mst*. Die *ms*-gene in die "Cornerstone" en "Probus" mutante is gesetel op chromosoom 4BS en is ten minste 50 kaarteenhede vanaf die sentromeer (Barlow *et al.*, 1981) geleë. Die distale area van 4BS bevat eenvoudig oorgeërfde *ms*-gene van hoë muteerbaarheid. Die chromosoom is gekarakteriseer as uniek in baie aspekte (Sears, 1966). In teenstelling met die 3 nullitetras van die homoloë groep 3 chromosome wat manlik-vrugbaar is, is daar vrugbaarheids afwykings by die groep 4 nullitetras. Sears (1978) het uit resultate verkry gepostuleer dat chromosoomarm 4B 'n geen/gene besit vir *mft* besit wat nie op 4A of 4D voorkom nie en die resultate is bevestig tydens 'n soortgelyke studie deur Wilson *et al.* (1983).

Die manlike steriliteit van 95K3 mag dus verband hou met die *T.urartu* addisie chromosoom in sy stamboom. Hierdie chromosoom kon behoue gebly het in 95K3 of kon aanleiding gegee het tot 'n chromosoomafwyking wat die steriliteit veroorsaak het. Die hoë voorkoms van telosome wat skynbaar van 95K3 oorsprong is, dui daarop dat daar moontlik ook chromosomale onstabaliteit ter sprake is. Terwyl die aard van die steriliteit onduidelik is, is dit duidelik dat die materiaal nie geskik is vir aneuploëdie analise nie.

**Tabel 3.15: Chromosoomgetalle van die F<sub>1</sub> na bestuiwing van 95K3 (manlik-steriel) met "Chinese Spring" aneuploëdie**

"Chinese Spring" aneuploëdie	Chromosoomkomplement					
	Ongeklas- sifiseerd	41 + t	40 + t <sup>l</sup> + 2t <sup>s</sup>	40 + 2t <sup>l</sup> + 2t <sup>s</sup>	40 + 2t <sup>l</sup> + t <sup>s</sup>	40 + 4t
40 + 2t <sup>4AL</sup> + 1t <sup>4AS</sup>	15	1	5	10	1	12
40 + 2t <sup>4BL</sup> + 1t <sup>4BS</sup>	22		7	9	2	14
40 + 2t <sup>4DL</sup> + 1t <sup>4DS</sup>	3		5	5		
40 + 2t <sup>5DL</sup> + 1t <sup>5DS</sup>	14					



'n Segregasie analise is ook uitgevoer om die 2 bronne van steriliteit nl. die bekende *Ms3* bron (96K109) en die onbekende bron (95K3), met mekaar te vergelyk en te bepaal of dit dieselfde lokus behels. Die twee manlik-steriele bronne is geplant en in die glashuis gelaat om are te vorm. Nadat manlik-steriele plante by beide bronne geïdentifiseer is, is dit teruggeknip en gelaat om nuwe are te vorm. Die *Ms3*-plante (96K109) is verskuif na 'n warmer temperatuur sodat steriliteit opgehef kon word. Hierdie plante is vervolgens as stuifmeelouers gebruik in 'n kruising met die onbekende bron se manlik-steriele plante. Die  $F_1$ -sade geoes vanaf 3 plante is geplant vir segregasie analise.

As 2 onafhanlike gene segregeer verwag ons 'n 3:1 segregasie van manlik-steriel:manlik-vrugbaar (Fig. 3.3(a)). As dieselfde lokus ter sprake is in die 2 bronne word daar ook verwag dat die  $F_1$ -generasie 3:1 sal segregeer (Fig. 3.3(b)). 'n Toets vir heterogeniteit is uitgevoer om te bepaal of data verkry toegeskryf kan word aan Mendeliese faktore. Die toets is uitgevoer soos beskryf deur Snedecor *et al.* (1967). 'n Chi-kwadraat waarde van 6.06 ( $P = 0.810$ ) is verkry. Dit dui daarop dat data wel aan Mendeliese faktore voldoen. Die chi-kwadraat waardes is vervolgens bepaal (Tabel 3.16). Die 3 families se individuele data was nie almal aanduidend van 'n segregasie verhouding van 3:1 nie, met slegs groep 3 wat moontlik 3:1 segregeer ( $P = 0.355$ ). Die chi-kwadraat waardes van die ander twee groepe dui nie op 3:1 segregasie nie. Die berekende chi-kwadraat waardes vir die gekombineerde data is eerder aanduidend van 'n tipiese toetskruising (1:1) (Fig. 3.3(c)), met  $P = 0.456$ . Die feit dat die steekproef relatief klein was kon die uitslag beïnvloed het en daarom is die plante gebruik vir 'n verdere segregasie analise.

Die 9 manlik-steriele plante van  $F_1$ -populasie no.3 (Tabel 3.16) is oopgeknip en toegelaat om te kruisbestuif met die manlik-vrugbare plante binne die groep. Die saad is hierna geoes. Die toets vir heterogeniteit is weereens uitgevoer en 'n chi-kwadraat waarde van 6.431 ( $P = 0.778$ ) verkry. Die data voldoen dus aan Mendeliese faktore. Die segregasie van die nege  $F_1$ -verhaalde  $F_2$ -populasies is vervolgens bestudeer (Tabel 3.17). Dit het egter soortgelyke resultate opgelewer met 'n  $P$ -waarde van 0.050 vir 'n 1:1 segregasie, wat dui op die segregasie van slegs een dominante, manlike steriliteitsgeen (Fig. 3.3(c)). Die uitslag van die segregasie analyses is dus 'n verdere aanduiding dat die steriliteit in die onbekende bron nie 'n eenvoudige Mendeliese oorerwingswyse het nie. Soos die sitologiese data aandui is dit waarskynlik die gevolg van chromosoomonstabiliteit en genetiese wanbalanse.

**Fig. 3.3(a)-(c): Die moontlike situasies ter verklaring van die waargenome segregasie verhoudings uit die kruising van 'n *Ms3* heterosigoot met 'n oënskynlike heterosigoot vir 'n onbekende *Ms*-geen, mits geen koppeling voorkom nie**

**(a) Twee onafhanklike dominante steriliteitsgene**

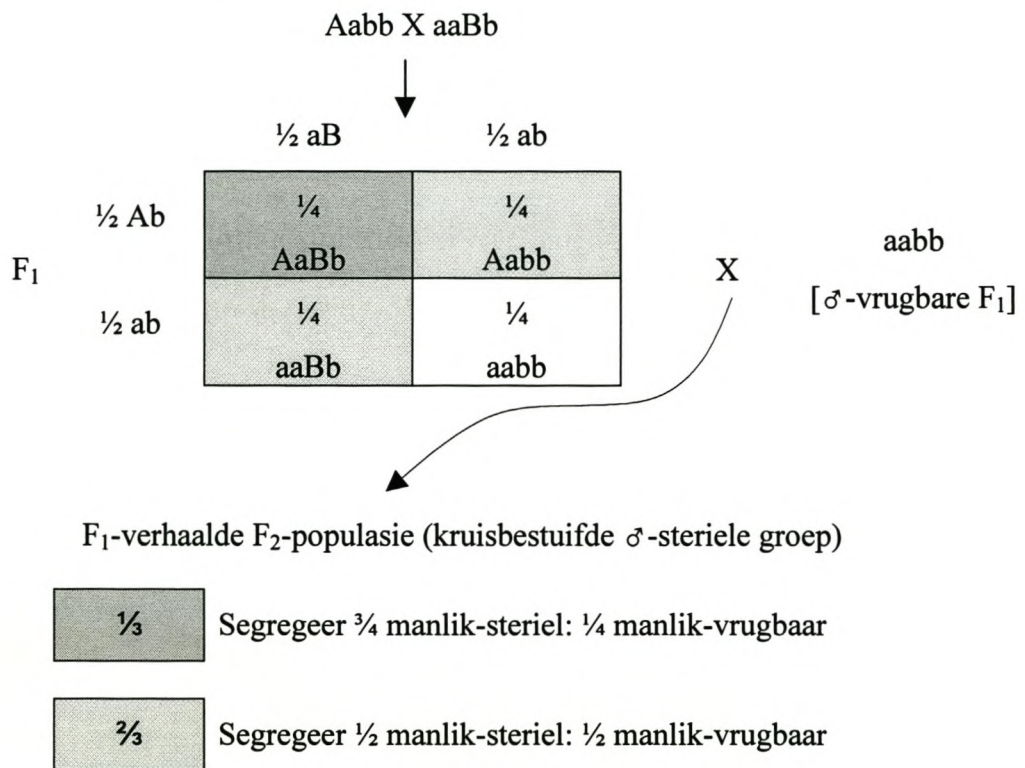




Fig.3.3(a)-(c)....(vervolg)

## (b) Beide mutasies betrek dieselfde lokus

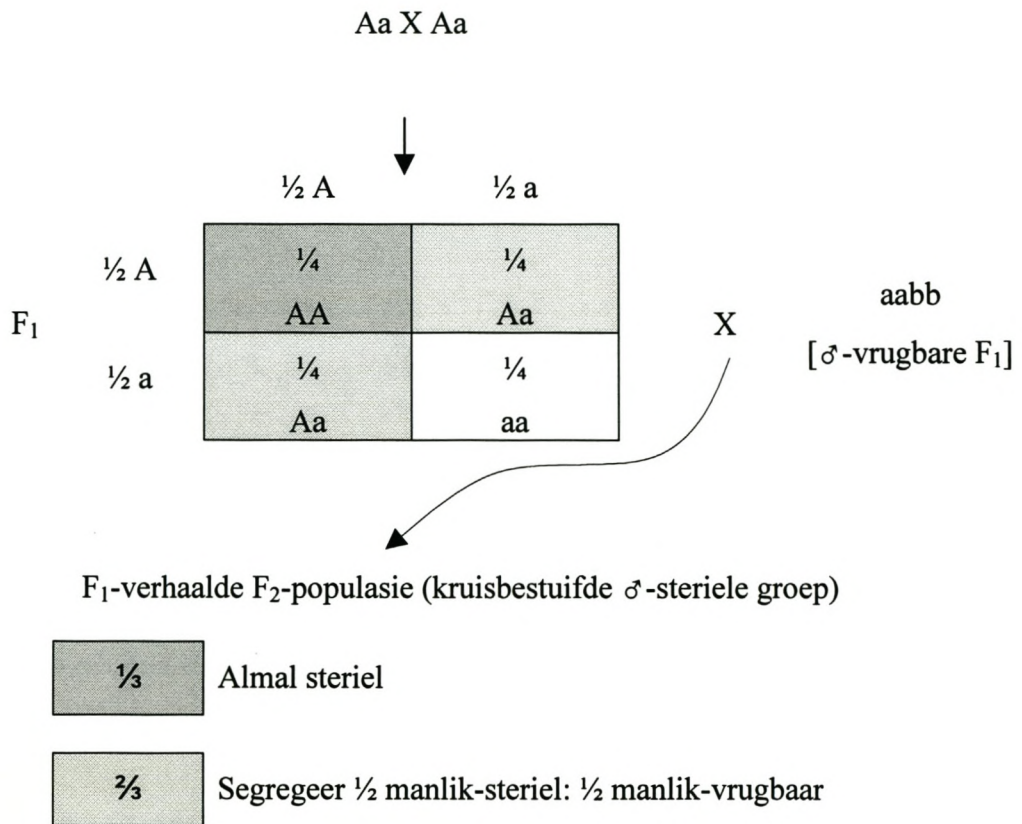
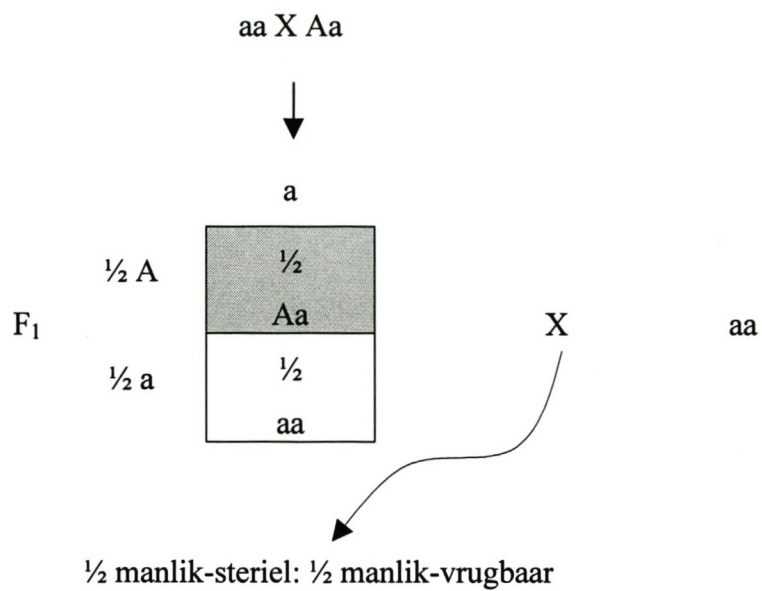


Fig.3.3(a)-(c)....(vervolg)

## (c) Slegs een lokus segregeer





**Tabel 3.16: Resultate van die Chi-kwadraat waardes vir 'n segregasie analise van die F<sub>1</sub>:96K109(*Ms3ms3*)/95K3(vermoedelik *Msms*)**

F <sub>1</sub>	Aantal plante:		3:1		1:1	
	Manlik-steriel	Manlik-vrugbaar	$\chi^2$	P	$\chi^2$	P
1	8	8	5.333	0.021	0.000	1.000
2	3	12	24.200	0.000	5.400	0.020
3	9	5	0.857	0.355	1.143	0.285
Totaal	20	25	22.407	0.000	0.556	0.456

**Tabel 3.17: Resultate verkry na toetsing van F<sub>1</sub>-verhaalde F<sub>2</sub>-populasies van die 9 manlik-steriele plante van F<sub>1</sub>-populasie no.3 (Tabel 3.16)**

F <sub>1</sub> - verhaalde F <sub>2</sub>	Waarneming		3:1		1:1	
	Manlik-steriel	Manlik-vrugbaar	$\chi^2$	P	$\chi^2$	P
1	17	22				
2	13	24				
3	20	17				
4	17	21				
5	19	12				
6	20	18				
7	16	23				
8	14	24				
9	14	25				
Totaal	150	186	165.143	0.000	3.857	0.050

### **3. Implementering van 'n praktiese werkswyse vir die uitvoer van 'n roetine herhalende seleksieprogram met koring**

#### **3.1. Roetine bestuiwing (in waterkulture) van groot getalle manlik-steriele halms met manlik-vrugbare halms**

Die bestuiwersisteem wat in 1998 en 1999 gebruik is, het gebreke gehad. Die saadset is wel verhoog vanaf 1998 (63%) tot 1999 (75%), maar die verspreiding van stuifmeel is belemmer deurdat die manlik-vrugbare are nie hoog genoeg geplaas was nie en stuifmeelverspreiding dus nie optimaal was nie. Die plastiekhouders se kapasiteit was ook te min sodat minder are bestuif kon word. Are moes meer dikwels hanteer word, omdat die voedingsoplossing dikwels aangevul moes word.

Gedurende die 2000 seisoen is daar egter van groter bakke gebruik gemaak. Die manlik-vrugbare are is ook van die manlik-steriele are geskei en in 2 aparte bakke op 'n raam geplaas, ongeveer 45cm hoog. Dit het die verspreiding van stuifmeel verbeter sodat stuifmeel oor al die oopgeknipte are gestort kon word. Hantering het ook verminder aangesien die bakke met manlik-vrugbare are na stuifmeelstorting verwyder kon word sonder versteuring van die manlik-steriele are. Die dreineringskraan en inlaat het dit ook moontlik gemaak om die voedingsoplossing te ruil en aan te vul sonder om al die bevrugte manlik-steriele are te verwyder. Die saadset is in 2000 verhoog tot ongeveer 80% en die gemiddelde d.k.m. na 16.1g.

#### **3.2. Benutting van manlike steriliteit in herhalende seleksie**

Gedurende 1998 is daar by vier geleenthede  $F_1$ :96K109 plante gekweek en getoets teen blaar- en/of streeproes (Tabel 3.18). Na klassifikasie is die plante uitgeplant in die glashuis en toegelaat om are te produseer. Manlik-steriele are is uit die 4 populasies geknip en in die bestuiwersisteem bestuif. 'n Aar op elke manlik-vrugbare  $F_1$ -plant is gedors vir landtoetsing in 1999.

Daar is op nege geleenthede are vir die bestuiwersisteem geknip. In totaal is 158 manlik-steriele en 188 manlik-vrugbare are gebruik (Tabel 3.19). Die knipsels het gewissel in getal en gebaseer op die produk van manlik-steriele x manlik-vrugbare are gedurende die 9 knipsels



kon daar potensieël 3436 kruisings-kombinasies voorkom. In totaal is 3410 sade verkry met 'n saadset van 63.47% (Tabel 3.19) Die gehalte van die saad verkry uit die bestuiwersisteem was swak en die persentasie saadset was baie laag. Die saad se ontkiemingspersentasie was egter hoog en hoewel die sade klein (9.6g d.k.m.) was, was dit nietemin bruikbaar.

**Tabel 3.18(a)-(b) Bestande saailinge geselekteer na inokulasie van F<sub>1</sub>:96K109 plante in 1998**

**(a) Blaar- en streeproes**

Lesing		1 <sup>e</sup> -herhaling	2 <sup>e</sup> -herhaling
Blaarroes	Geelroes		
;	;	31	8
;	1	5	12
;	2	10	4
1	;	5	16
1	1	4	15
1	2	0	45
2	;	31	27
2	1	13	47
2	2	38	54
Totaal geselekteer		137	228
Totaal geklassifiseer		455	468

**(b) Blaarroes**

Blaarroes	3 <sup>e</sup> -herhaling	4 <sup>e</sup> -herhaling
;	9	15
1	40	33
2	73	62
Totaal geselekteer	122	110
Totaal geklassifiseer	478	480

**Tabel 3.19: Kruisings gedoen en saad verkry uit die bestuiwersisteem in 1998**

Knipsel	Manlik-vrugbaar	Manlik-steriel	Moontlike kombinasies	Aantal sade	Persentasie saadset	D.k.m. (g)
1	19	12	228	238	58.30	9.7
2	18	12	216	258	63.33	11.5
3	19	13	247	354	80.00	10.8
4	21	19	399	377	58.33	11.8
5	20	19	380	436	67.46	9.5
6	18	16	288	426	78.33	8.3
7	20	20	400	175	25.67	9.5
8	20	21	420	453	63.41	7.6
9	33	26	858	668	75.51	9.4
Totaal	188	158	3436	3410	63.47	9.6

### 3.3. Verbreding van die genetiese basis van die uitgangspopulasie

#### (a) 1999 Seisoen

Die  $F_1$ -populasie wat gedurende 1999 getoets is, het bestaan uit plante afkomstig vanaf die 1998 bestuiwersisteem en  $F_1$ :96K109 plante. Die twee groepe is afsonderlik getoets vir roesweerstand. Vir die eerste groep is 37 potte geplant en vir die tweede groep 40 potte. Die verspreiding van weerstand was soos uiteengesit in Tabel 3.20.

Die manlike bestuiwerpopulasie vir 1999 het bestaan uit drie subpopulasies. Die 3 subpopulasies is net soos in die geval van die  $F_1$ -gemengde populasie getoets vir roesweerstand in twee herhalings.

In totaal is 9563 plante geklassifiseer vir roesweerstand teen die heersende blaar- en stamroespatotipes. Die potensieel manlik-steriele komponent het uit 3824 saailinge bestaan. Die manlik-vrugbare komponent het uit 4109  $F_3$ -saailinge bestaan afkomstig vanaf 157 landgeselekteerde  $F_2$ :96K109 plante en sade vanaf 44  $F_2$ - $F_4$  seleksies uit 'n stamboomseleksieprogram (Tabel 3.21). In totaal is 3230 weerstandbiedende saailinge geselekteer.



Gedurende 21 geleenthede is are vir die bestuiwersisteem geknip. In totaal is 448 manlik-steriele en 1020 manlik-vrugbare are gebruik. Die 21 knipsels het elk 8 - 33 manlik-steriele are en 23 - 56 manlik-vrugbare are ingesluit. Gebaseer op die produk van manlik-steriele x manlik-vrugbare are gedurende die 21 knipsels kon daar potensieël 22173 kruisings-kombinasies voorkom. In totaal is 12138 sade verkry met 'n saadset van ongeveer 75%. Die gemiddelde d.k.m. was ongeveer 11.4g (Tabel 3.22).

**Tabel 3.20: Saailingresultate verkry na roestoetsing van die F<sub>1</sub>-populasies in 1999**

	Roesklassifikasie			Res (3 - 4)	Totaal	Seleksie intensiteit (%)
	Bestand (0 - ;)	Bestand tot matig vatbaar (;1 - 2)	Matig vatbaar (2+)			
a.	327	482	658	2357	3824	38.36
b.	202	293	425	1327	2247	40.94
Totaal	529	775	1083	3684	6071	39.65

a. F<sub>1</sub>-populasies geproduseer in 1998

b. F<sub>1</sub>:96K109

**Tabel 3.21: Saailingdata verkry na roestoetsing van die twee bestuiwer-populasies in 1999**

	Geselekteer (0 - 2+)	Res (3 - 4)	Totaal	Seleksie respons (%)
a	424	1438	1862	22.77
b	419	1211	1630	25.71
Totaal	843	2649	3492	24.24

a. F<sub>3</sub>-saad ex F<sub>2</sub>-plante geselekteer op Welgevallen in 1998

c. 44 Plante geselekteer uit stamboom seleksieprogram (Aanhangsel B)

**Tabel 3.22: Kruisings gedoen en saad verkry uit die bestuiwersisteem in 1999**

Knipsel	Manlik- vrugbaar	Manlik- steriel	Moontlike kombinasies	Aantal sade	Persentasie saadset	D.k.m. (g)
1	23	18	414	500	77.1	9.7
2	54	23	1242	581	70.15	12.58
3	33	8	264	194	67.32	14.1
4	50	18	900	519	80.12	10.56
5	66	19	1254	508	74.28	11.24
6	58	17	986	467	76.25	10.59
7	51	21	1071	531	70.28	8.58
8	44	18	792	520	80.25	12.58
9	48	17	816	500	81.62	14.56
10	49	19	931	575	84.12	15.1
11	55	30	1650	703	65.12	10.45
12	55	28	1540	607	60.23	11.35
13	52	21	1092	568	75.14	12.3
14	48	20	960	519	72.15	10.58
15	56	21	1176	575	76.12	9.86
16	56	18	1008	427	65.89	10.3
17	54	33	1782	1060	89.23	8.6
18	54	32	1728	905	78.56	10.52
19	41	23	943	664	80.25	9.57
20	41	24	984	650	75.23	10.85
21	32	20	640	563	78.25	15.4
Totaal	1020	448	22173	12138	75.13	11.4



## (b) 2000 Seisoen

Die  $F_1$ -populasie wat in 2000 getoets is, het bestaan uit plante afkomstig uit die bestuiwersisteem van 1999. Die populasie is op twee geleenthede getoets vir roesweerstand. Vir beide is 30 potte geplant met 40 saailinge per pot. Die plante is hierna geklassifiseer (Tabel 3.23).

Die manlike bestuiwerpopulasie van 2000 het uit 2 subpopulasies bestaan nl. die  $F_3$ -sade vanaf 157  $F_2$ -landgeselekteerde plante (Welgevallen 1999) en 64 agronomies voortreflike plante (Aanhangsel C) uit 'n stamboom seleksieprogram. Die 2 subpopulasies is net soos in die geval van die  $F_1$ -populasie getoets vir roesweerstand (Tabel 3.24).

In totaal is 6465 plante geklassifiseer vir roesweerstand teen die heersende blaar- en stamroespatotipes. Die manlik-steriele komponent het uit 3233 saailinge bestaan. Die manlik-vrugbare komponent het uit 3232  $F_3$ -saailinge bestaan. In totaal is 2832 weerstandbiedende saailinge geselekteer.

Gedurende 17 geleenthede is are vir die bestuiwersisteem geknip. In totaal is 878 manlik-steriele en 1016 manlik-vrugbare are gebruik. Gebaseer op die produk van manlik-steriele x manlik-vrugbare are gedurende die knipsels kon daar potensieel 53171 kruisings kombinasies voorkom. In totaal is 25830 sade verkry met 'n saadset van 81.7%. Die gemiddelde d.k.m. was 16.1g (Tabel 3.25).

**Tabel 3.23: Saailingdata verkry na roestoetsing van die  $F_1$ -populasie in 2000**

	Roesklassifikasie			Res (3 -4)	Totaal	Seleksie intensiteit (%)
	Bestand (0 - ;)	Bestand tot matig vatbaar (;1 - 2)	Matig vatbaar (2+)			
Totaal	280	507	719	1727	3233	46.58

**Tabel 3.24: Saailingdata verkry na roestoetsing van die twee bestuiwer-populasies in 2000**

	Geselekteer (0 - 2+)	Res (3 - 4)	Totaal	Seleksie respons (%)
a	891	979	1870	47.65
b	435	927	1362	31.94
Totaal	1326	1906	3232	41.03

a. F<sub>3</sub>-saad ex F<sub>2</sub>-plante geselekteer op Welgevallen in 1999

b. 64 Plante geselekteer uit stamboom seleksieprogram (Aanhangsel C)

**Tabel 3.25: Kruisings gedoen en saad verkry uit die bestuiwersisteem in 2000**

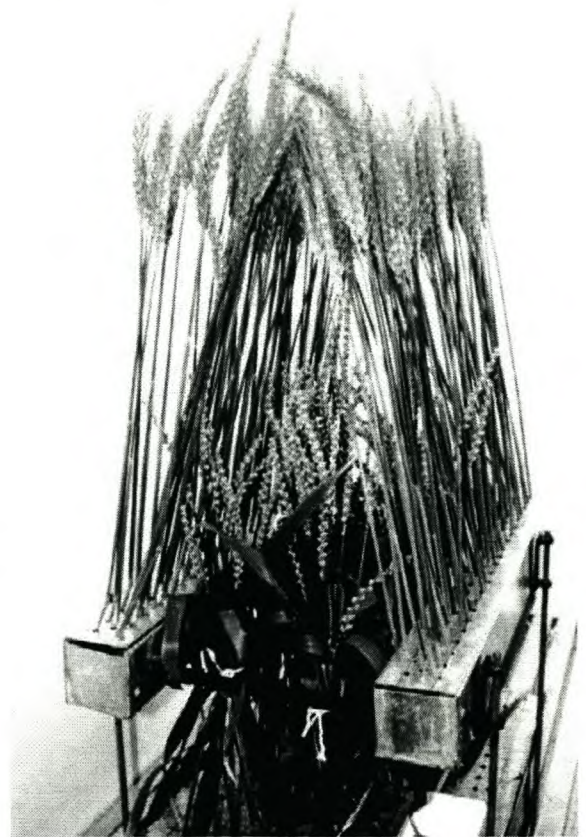
Knipsel	Manlik- vrugbaar	Manlik- steriel	Moontlike kombinasies	Aantal sade	Persentasie saadset	D.k.m. (g)
1	68	59	4012	1710	80.5	12.5
2	56	51	2856	1517	82.6	14.5
3	66	55	3630	1614	81.5	16.8
4	65	52	3380	1488	79.5	17.3
5	70	56	3920	1498	74.3	15.5
6	55	48	2640	1427	82.6	16.5
7	69	58	4002	1887	90.4	14.5
8	60	58	3480	1677	80.3	13.4
9	50	42	2100	1296	85.7	14.6
10	59	48	2832	1046	60.6	19.6
11	57	51	2907	1657	90.3	16.3
12	54	53	2862	1531	80.3	14.1
13	75	65	4875	1971	84.3	20.9
14	58	50	2900	1576	87.6	19.6
15	53	45	2385	1274	78.7	12.5
16	51	40	2040	1156	80.3	16.5
17	50	47	2350	1524	90.1	19.0
Totaal	1016	878	53171	25830	81.7	16.1



**Fig. 3.4 (a)-(d): Die fotos illustreer die proses van kruisbestuiwing soos dit plaasvind in die bestuiwersisteem (2000) ((a)-(c)) en 'n vergelyking van die saad (d) verkry met glashuis verboude plante**



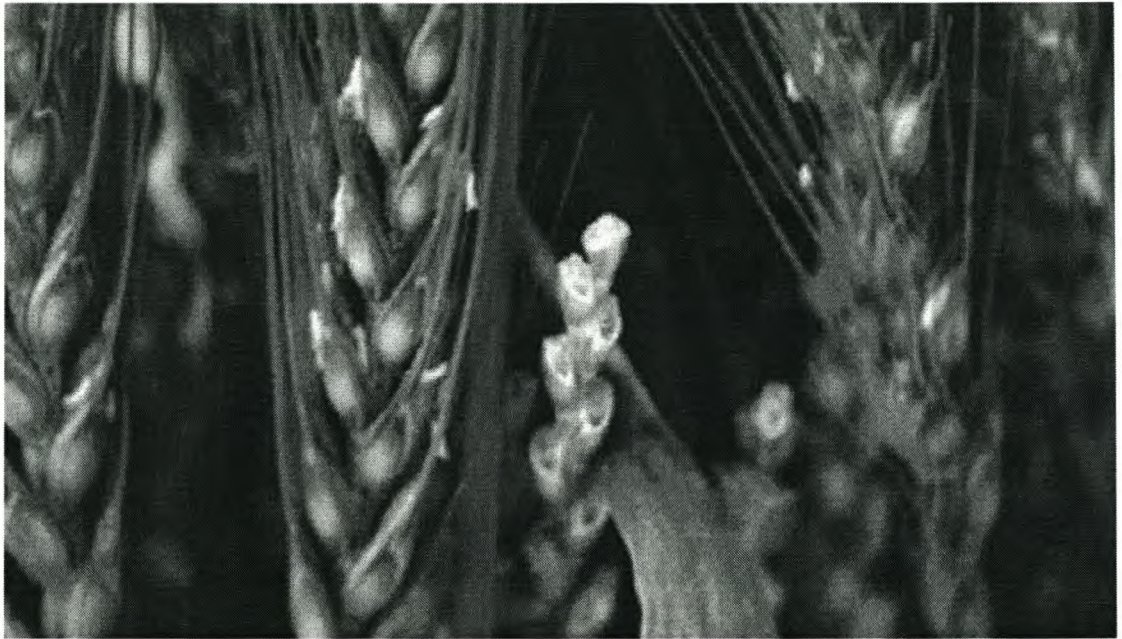
**(b) Bestuiwersisteem (naderskoot) met die oopgeknippte manlik-steriele are duidelik sigbaar**



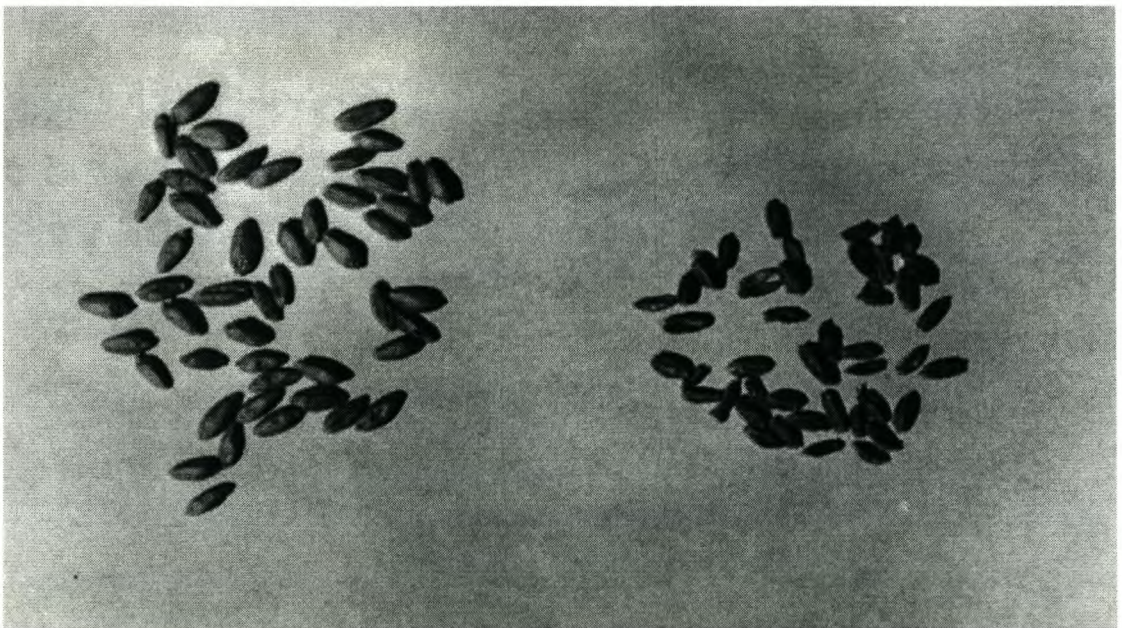
**(a) Bestuiwersisteem met manlik-vrugbare are in kant bakke, hoër geplaas vir verbeterde bestuiwing**



**Fig. 3.4 (a)-(d)....(vervolg)**



**(c) Vergroting van are tydens bestuiwing**



**(d) Vergelyking van saad soos verkry uit die bestuiwersisteem (regs) en saad verkry vanaf glashuisverboude plante**



### 3.4. Ramings van die genetiese diversiteit binne die uitgangspopulasie op verskillende stadia in die ontwikkeling daarvan

#### 3.4.1 Evaluasie van die 1999 landaanplanting

Drie honderd- en –vier  $F_2$ -families vanaf bestande  $F_1$ -plante uit die 1998 kruissingssiklus is in 5 blokke, 3m rye, op Welgevallen geplant in 1999. Die eerste vier blokke het uit 72 rye bestaan met 8 kontroles (2 X Kariëga, SST 57, SST 65 en SST 75) en 64  $F_2$ :96K109 families. Die vyfde blok het uit 4 kontroles en 48  $F_2$ :96K109 families bestaan. Na visuele vergelyking met die kontroles is 157 rye (blok 1: 30, blok 2: 40, blok 3: 36, blok 4: 34 en blok 5: 17) met aanvaarbare agrotipe geïdentifiseer. Die saad opbrengs van elke geselekteerde ry en alle kontroles is gemeet. 'n Honderd gram monster is vermaal en die meelblomekstraksie is bereken. Hierna is 'n miksogram vir elke monster verkry. Die miksogram afvoer is verwerk en piektyd asook piekhoogte bepaal.

Die verkreeë data (opbrengs per ry, meelblomekstraksie (%), piektyd en piekhoogte) is m.b.v. Microsoft Excell verwerk. Die eerste vier blokke (slegs eerste vier blokke omdat 2 herhalings binne blokke voorgekom het) se kontroles is eerstens geanaliseer vir elkeen van die data-kategorieë met standarde, blokke, interaksie tussen standarde en blokke, en die standarde binne blokke binne herhalings wisselwerking as bronne van variasie (Tabel 3.27(a)-(d)). Die  $F_2$ -families se data is daarna verwerk met 'n ANOVA wat voorsiening maak vir tussen blokke en binne blokke as bronne van variasie (Tabel 3.28(a)-(d)). Die variansie van die kontroles is gebruik vir beraming van die omgewings variansie ( $V_E$ ) en die fenotipiese variansie ( $V_P$ ) is hierna bereken uit die ANOVAs van die  $F_2$ :96K109 families om die variasie binne die populasie te beraam.

#### (a) Opbrengs per ry

Die ANOVA vir die kontroles (Tabel 3.27) dui daarop dat ( $P = 0.5700$ ) daar nie getuënis vir genetiese verskille tussen die kontroles self is nie. Die interaksie van die  $F_2$ -families met blokke is ook nie betekenisvol nie ( $P = 0.3614$ ). Die fenotipiese variansie soos verkry vanuit die ANOVA is  $V_P = 1046, 2054$  terwyl die geraamde  $V_E$ -waarde 169.9522 is. Hieruit kan die genotipiese variasie beraam word as  $V_G = 876.2532$ . Die oorerflikheid ( $h^2$ ) vir die populasie is dus  $h^2 = 0.837$ .



## (b) Meelblomekstraksie

Die ANOVA vir die kontroles (Tabel 3.27) dui ( $P = 0.0839$ ) daarop dat verskille in meelblomekstraksie tussen kontroles bestaan. Die kontrole X blokke interaksie is egter nie betekenisvol nie ( $P = 0.1219$ ). Die ANOVAs gee 'n  $V_P$ -waarde van 128.8922 en 'n  $V_E$ -waarde van 12.2156. 'n Benaderde  $V_G$ -waarde van 116.6766 kan hieruit bereken word. Die oorerflikheid ( $h^2$ ) vir die populasie kan hieruit bereken word as 0.905.

## (c) Piekhoogte

Die ANOVA vir die kontroles (Tabel 3.27) dui daarop dat ( $P = 0.4812$ ) daar nie betekenisvolle verskille tussen die standarde gevind is nie. Die  $P$ -waardes vir die interaksie ( $P = 0.1086$ ) dui ook nie op sterk getuigenis teen die nulhipotese nie. Die ANOVAs gee 'n  $V_P$ -waarde van 134.3564 en 'n  $V_E$ -waarde van 71.0625. 'n Benaderde  $V_G$ -waarde van 63.2939 kan hieruit bereken word. Die oorerflikheid ( $h^2$ ) vir die populasie kan hieruit bereken word as 0.471.

## (d) Piektyd

Die ANOVA vir die kontroles (Tabel 3.27) dui daarop ( $P = 0.0064$ ) dat daar betekenisvolle verskille tussen die kontroles bestaan. Die  $P$ -waardes vir die interaksie ( $P = 0.0693$ ) is ook betekenisvol. Die variansie komponente soos verkry uit die ANOVA is  $V_P = 1609.3778$  en  $V_E = 1432.0000$ . 'n Benaderde  $V_G$ -waarde van 177.3778 kan hieruit bereken word. Die oorerflikheid ( $h^2$ ) vir die populasie is dus 0.110

Die verkreeë data dui dus op hoë vlakke van genotipiese variasie vir al vier die kenmerke. Die beraamde oorerflikhede is hoog (met uitsondering van piektyd) en goeie genetiese vordering behoort moontlik te wees met seleksie. Die verspreiding van datapunte vir die kontroles en  $F_2$ -families word in Fig. 3.5 - 3.8 opgesom (foto van materiaal in Fig. 3.9) en dui daarop dat dit moontlik behoort te wees om vir die kenmerke opbrengs, ekstraksie en piekhoogte families te selekteer wat beter presteer as die kontroles. In die geval van piektyd word geselekteer vir 'n optimale (2 - 2.5 minute) waarde eerder as 'n maksimale waarde.



**Tabel 3.26: Opbrengs en kwaliteits gemiddeldes vir die onderskeie inskrywings na landtoetsing in 1999****(a) Standaardde**

Inskrywing	Opbrengs per ry (g)	Meelblom- ekstraksie (%)	Miksograaftoetse	
			Piektyd (sek)	Piekhoogte (mm)
SST 57	156.45	53.39	109	64.8
SST 65	176.60	60.15	170	55.9
Kariega	143.51	61.05	124	62.1
SST 75	195.32	68.21	120	64.0
Gemiddeld	167.97	60.70	131	61.7
sf.*	24.469	6.521	29.140	4.333

\*Standaardfout vir 95% vertroubaarheids interval

**(b) F<sub>2</sub>:96K109**

Inskrywing	Opbrengs per ry (g)	Meelblom- ekstraksie (%)	Miksograaftoetse	
			Piektyd (sek)	Piekhoogte (mm)
Blok 1	128.93	58.42	125	65.4
Blok 2	177.50	62.58	170	69.7
Blok 3	165.56	63.25	142	64.9
Blok 4	169.00	61.38	136	64.6
Blok 5	170.18	59.8	122	69.8
Gemiddeld	162.85	61.38	142	66.7
sf.*	23.737	2.448	23.626	3.274

\*Standaardfout vir 95% vertroubaarheids interval

**Tabel 3.27: Gemiddelde kwadrate in ANOVA gebaseer op die metings van die vier standaarde**

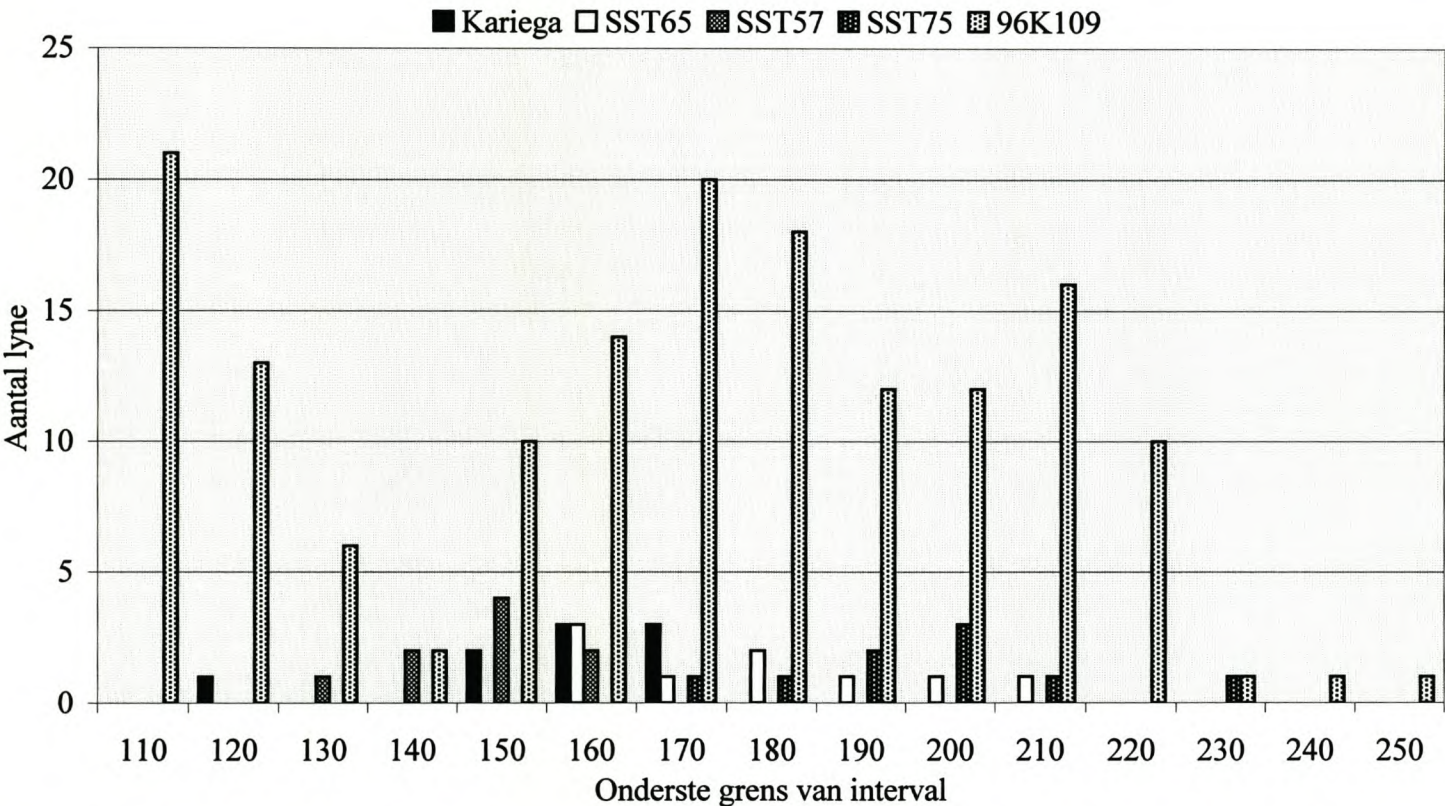
	Bron van variasie			
	Standaard (S)	Blokke (B)	(S) x (B)	(S) binne (B) binne Herhalings
vg.	3	3	9	16
Opbrengs per ry	117.651	4142.528**	203.187	169.952
Meelblomekstraksie	32.470	294.228**	23.471	12.216
Piekhoogte	61.210	129.880	142.070	71.063
Piektyd	8485.542**	5875.042*	3304.570	1432.000

\*  $0.05 \geq P$ \*\*  $0.01 \geq P$ **Tabel 3.28: Gemiddelde kwadrate in ANOVA gebaseer op die metings van die F2:96K109 landaanplanting in 1999**

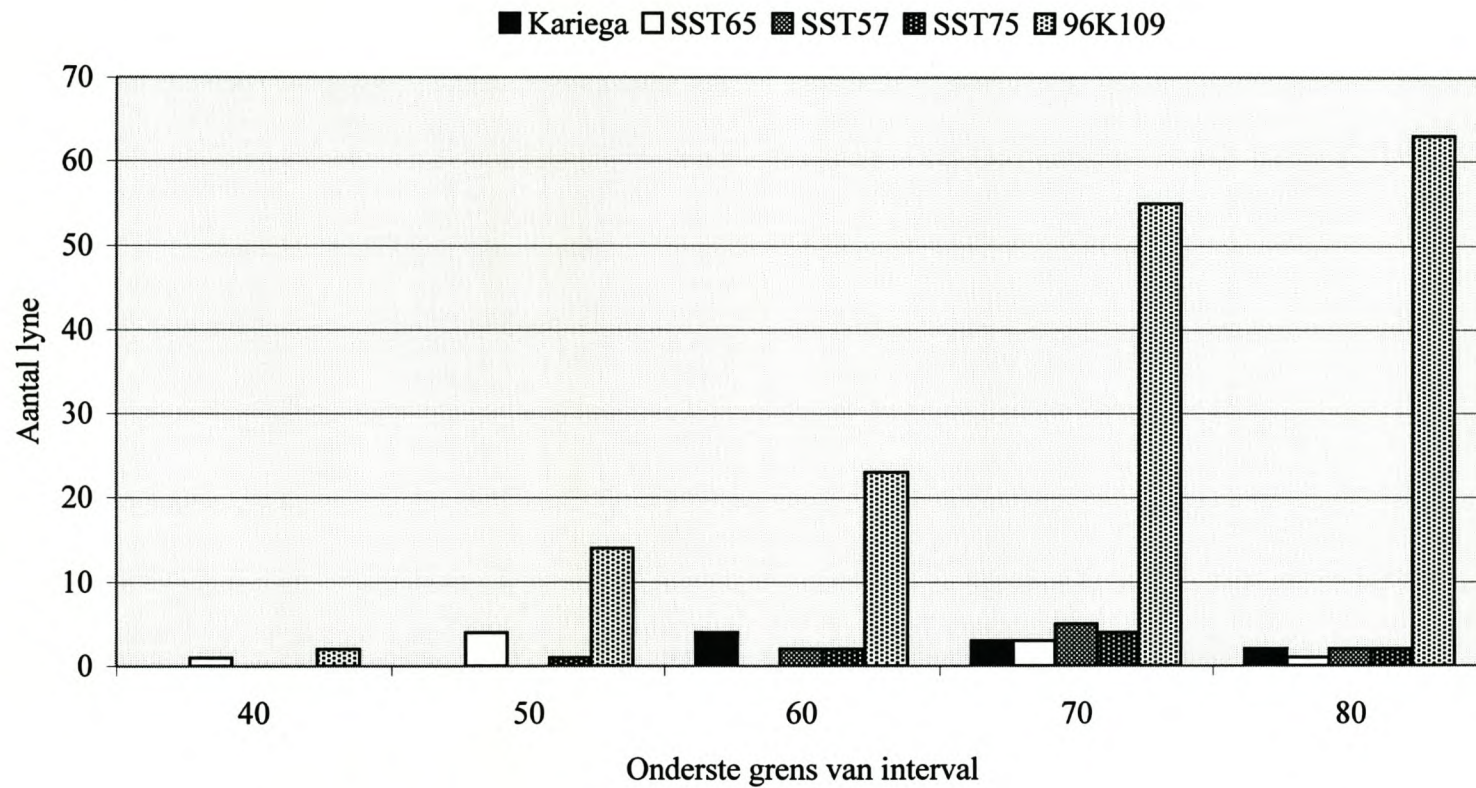
	Bron van variasie	
	Tussen blokke	Binne blokke
vg	4	152
Opbrengs per ry	11389.278**	1046.205
Meelblomekstraksie	121.013	128.892
Piekhoogte	208.959	134.356
Piektyd	11876.953**	1609.378

\*  $0.05 \geq P$ \*\*  $0.01 \geq P$





**Fig. 3.5 : Verspreiding van opbrengs per ry vir die 96K109 F2-families (157 rye) en die 4 standarde (36 rye)**



**Fig. 3.6 : Verspreiding van meelblomekstraksie vir die 96K109 F2-families (157) en die 4 standarde (36 rye)**



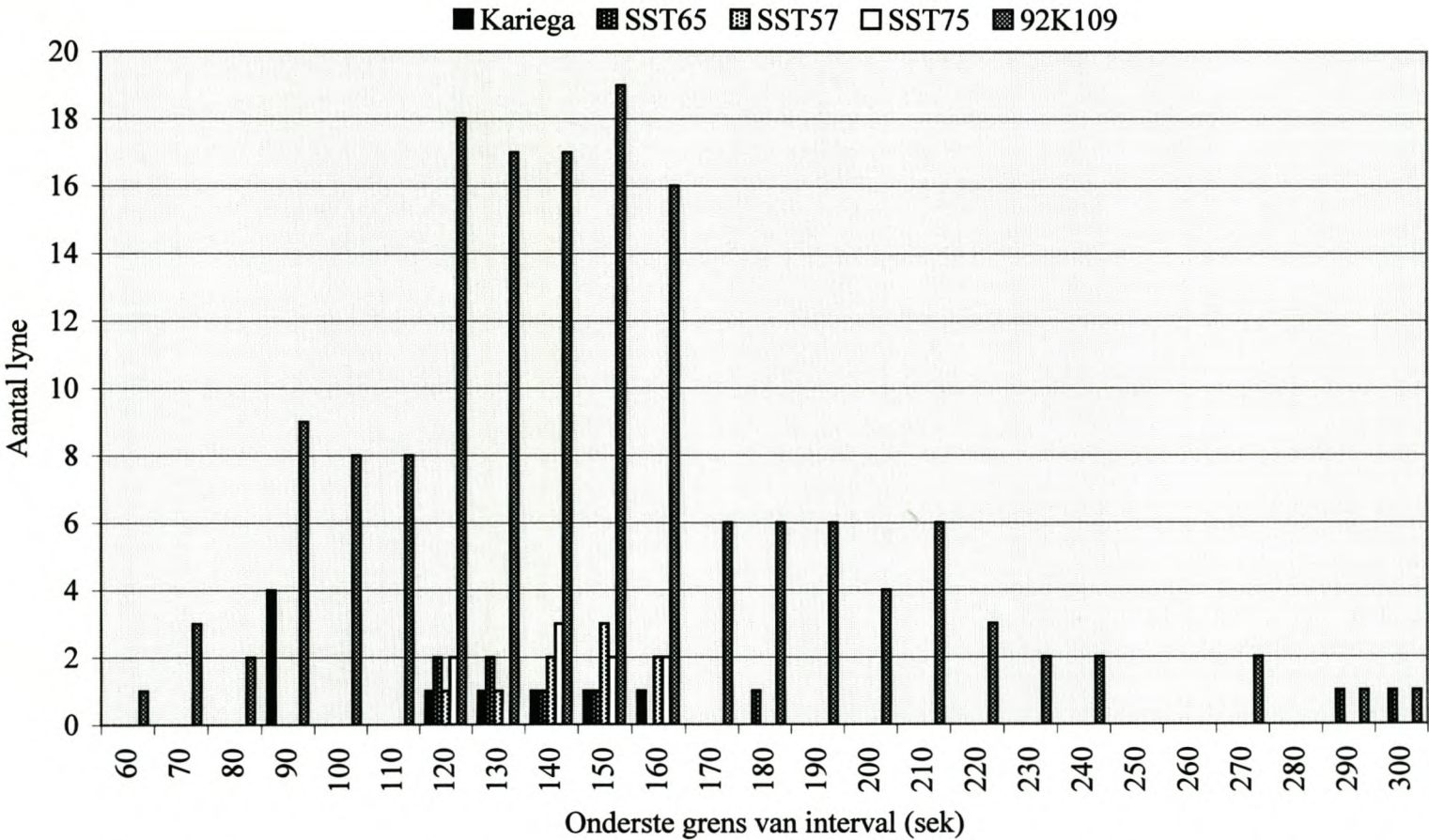
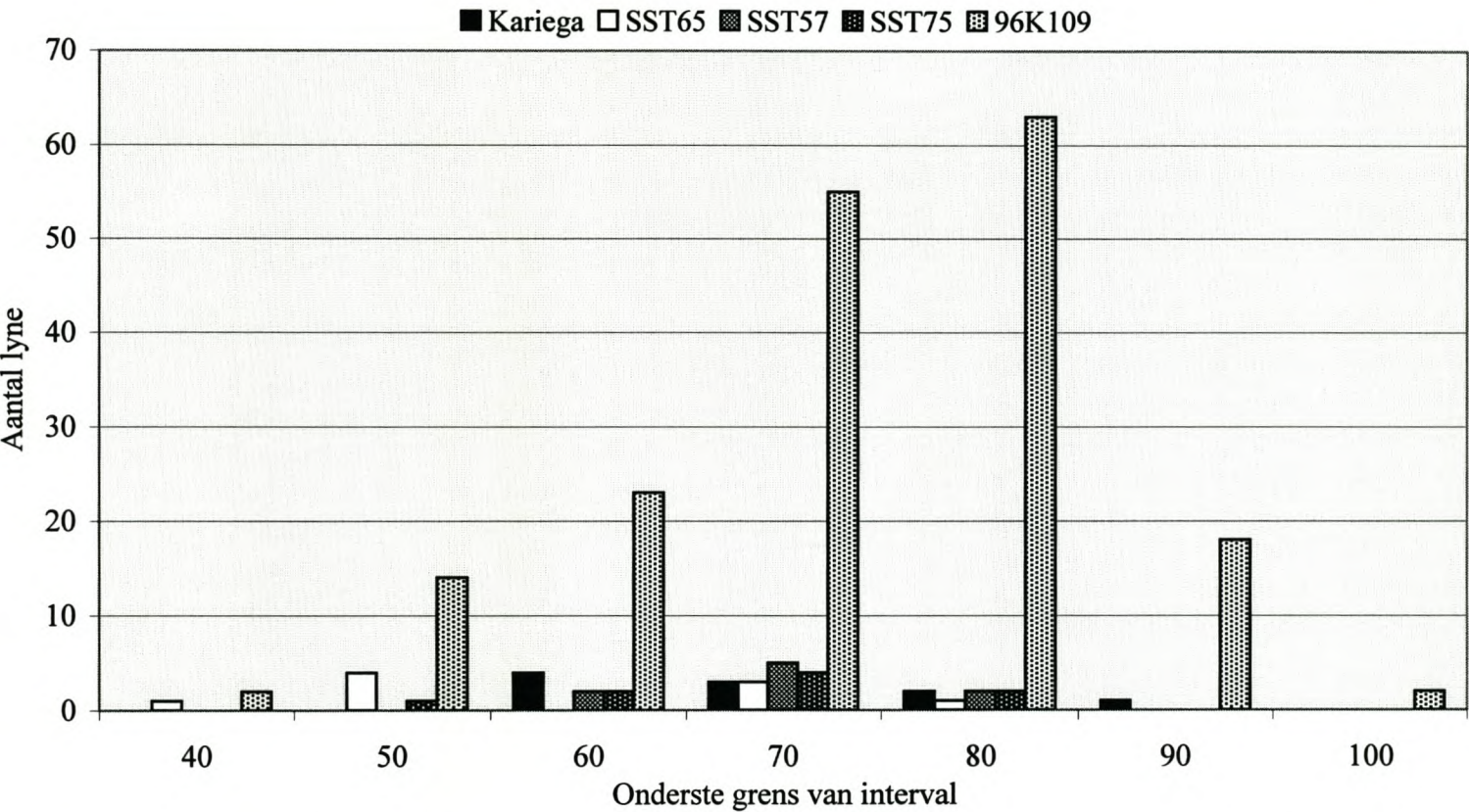


Fig. 3.7 : Verspreiding van piektyd vir die 96K109 F2-families (157 rye) en die 4 standaarde (36 rye)



**Fig. 3.8 : Verspreiding van piekhoogte vir die 96K109 F2-families (157 rye) en die 4 standaarde (36 rye)**





**Fig. 3.9: Variasie in die  $F_2$ -families (96K109)**



### 3.4.2 Evaluasie van $F_1$ -populasies: 1999 en 2000

Gedurende 2000 is die  $F_1$ -populasies van 1999 en 2000 geplant en die saailinge teen heersende blaar- en stamroespatotipes geïnkuleer met die doel om die variasie vir weerstand binne die populasies te ondersoek.

In totaal is 454 plante afkomstig vanaf die 2000-populasie getoets en 519 plante afkomstig vanaf die 1999-populasie. Die 2 populasies kan egter nie gebruik word om seleksievordering te meet nie, want die 1999-populasie se manlike komponent is van buite aangevul met sade vanaf 44  $F_2$ - $F_4$  seleksies (Aanhangsel B) uit 'n stamboomseleksieprogram en die 2000 populasie se manlike komponent met sade vanaf 64  $F_2$ - $F_4$  seleksies (Aanhangsel C). Die roestoetsing verskaf egter 'n goeie aanduiding van die verspreiding van weerstand binne die populasies.

Die reaksies X - 2 is as aanvaarbare vlakke van weerstand beskou met 3 - 4 as "vatbaar". Tabel 3.29(a)-(b) dui daarop dat in die 1999-populasie gemiddeld 55.4% en by die 2000-populasie gemiddeld 52.8% van saailinge as blaarroes "vatbaar" beskou kan word. Die frekwensie stamroesweerstand is egter baie hoër met ongeveer 94.25% van saailinge in 1999 en 86% van saailinge in die 2000-populasie wat as bestand geklassifiseer is. Die uitslag van die roestoetsing dui dus daarop dat die frekwensie effektiewe blaarroesweerstandsgene meesal laer is terwyl die stamroesweerstand redelik hoog is binne beide die 1999- en 2000-populasies. Hierdie redelike verspreiding van die roesweerstand is bemoedigend.



**Tabel 3.29(a)-(b): Saailing roesdata verkry na toetsing van die 1999 en 2000 F<sub>1</sub>-populasies (die aantal plante waargeneem binne klasse t.o.v. 'n sekere patotipe word as persentasie weergegee)**

**(a) 1999**

Roespatotipe	Lesing					
	X	;	1	2	3	4
UVPrt 2	0	10	12	21	47	10
UVPrt 3	0	14	14	20	38	14
UVPrt 8	2	0	21	23	35	19
UVPrt 9	0	4	13	25	40	19
UVPrt 13	8	10	11	16	47	8
UVPgt 50	0	27	69	2	2	0
UVPgt 51	0	39	57	0	4	0
UVPgt 52	0	15	76	4	4	0
UVPgt 53	0	13	44	30	13	0

**(b) 2000**

Roespatotipe	Lesing					
	X	;	1	2	3	4
UVPrt 2	0	17	12	17	38	15
UVPrt 3	0	15	15	16	35	20
UVPrt 8	0	0	28	26	30	16
UVPrt 9	2	8	15	11	42	23
UVPrt 13	0	15	13	27	38	7
UVPgt 50	0	16	51	0	33	0
UVPgt 51	0	18	76	0	6	0
UVPgt 52	0	13	80	0	7	0
UVPgt 53	0	8	79	2	10	0

#### 4. Samevatting

Verskeie nuttige gevolgtrekkings het na vore gekom tydens die uitvoer van saailing seleksies en kruisbestuiwing in die bestuiwersisteem:

- (a) Die bestuiwersisteem het baie klein  $F_1$ -sade tot gevolg en hoewel die sade kiemkragtig is, is die saailinge verswak en nie geskik vir landaanplantings nie. Die glashuisplanting en saailing evaluasie verskaf egter genoegsame geleentheid vir die plante om te herstel en lewer hoë kwaliteit are.
- (b) Saalinggroesweerstand kan terselfertyd gedoen word vir blaar- en stamroes of vir blaar- en geelroes. Die rede hiervoor is dat die optimale temperature vir stam- en geelroes ontwikkeling wesenlik verskil. Opeenvolgende toetsing is egter nie wenslik nie, want die plante word dan vir verlengde periodes aan onnatuurlike lig en stremming blootgestel wat lei tot swak are en lae bestuiwings frekwensies.
- (c) Saalingtoetsing moet verkieslik met groot hoeveelhede plante uitgevoer word sodat volwasse plant weerstandsgene nie verlore gaan nie.
- (d) Merker bemiddelde seleksie kan heel moontlik in die saailing stadium aangewend word.

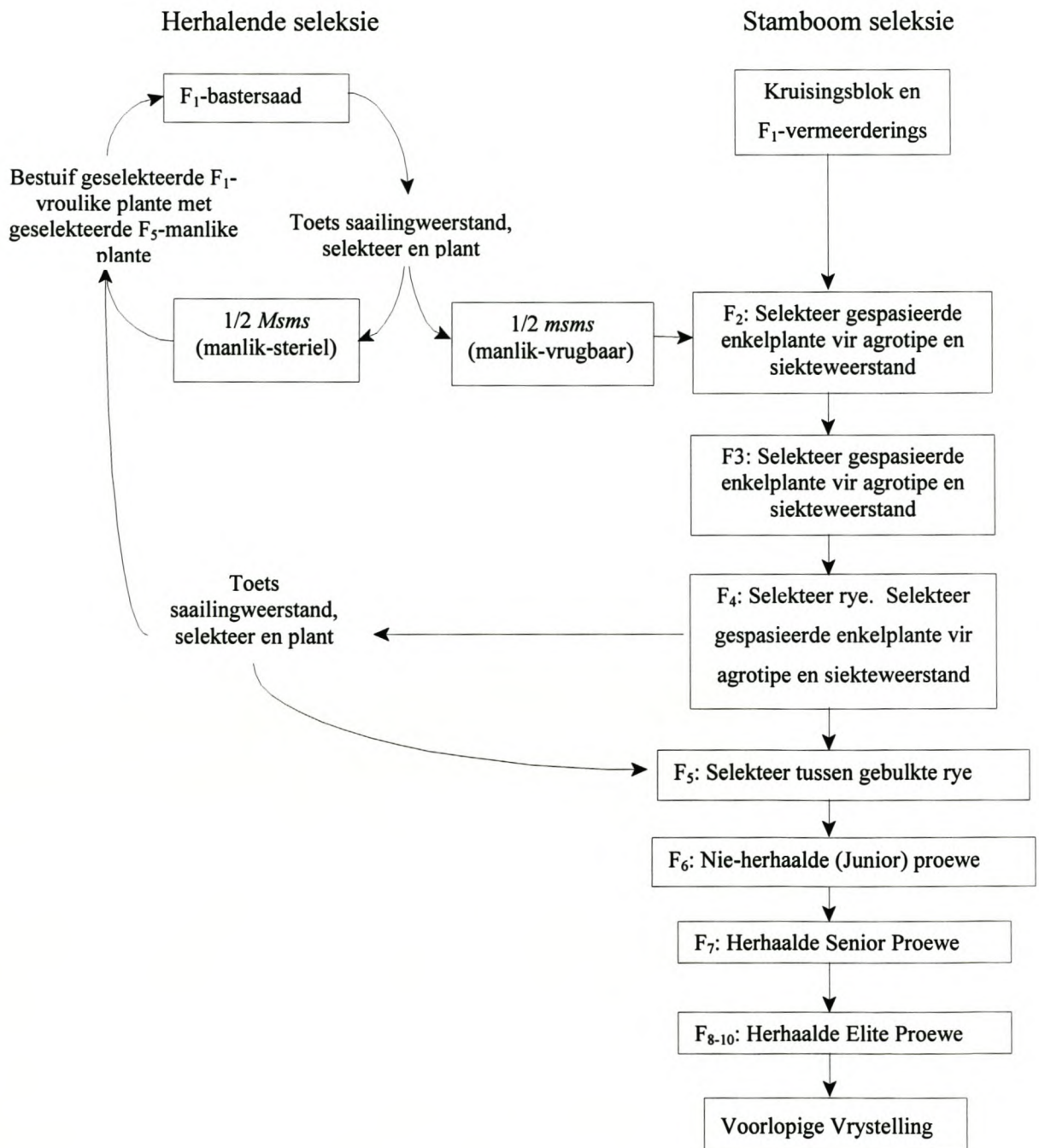
Min arbeid word vereis om die groot hoeveelheid kruisbestuiwing te bewerkstellig en groot hoeveelhede  $F_1$ -bastersaad te produseer in teenstelling met normale kruisingsmetodes. Indien die heterogeniteit van die manlik-steriele plante in gedagte gehou word is die potensiële genetiese variasie wat geskep kan word, aansienlik. Dit moet egter in gedagte gehou word dat die diversiteit wat gerealiseer sal word, sterk sal afhang van die heterogeniteit van die basis populasie, sinchronisasie van stuifmeelstorting van die manlike plante en plaas van are om die grootste aantal moontlike kruisings kombinasies te verseker.

Uit die ervaring opgedoen met die implementering van die herhalende seleksie is 'n skema ontwikkel waarvolgens herhalende seleksie doeltreffend geïntegreer kan word met 'n stamboom seleksieprogram. Soos aangedui in Fig. 3.10 is dit moontlik om herhalende seleksie en stamboom seleksie te integreer met die minimale ontwirgting en aanpassing van beide seleksieprogramme. Die integrasie het die volgende voordele:

- (a) Dit is reeds bewys dat herhalende seleksie 'n konvensionele teelprogram goed kan aanvul deur die akkumulering van voordelige gene te bevorder en deur die opbreek van



ongunstige koppelings toe te laat. Dit kan enige fraksie van die materiaal binne 'n stamboom seleksieprogram betrek.



**Fig. 3.10:** Voorstelling van die voorgestelde integrasie van 'n herhalende seleksieprogram met 'n stamboom seleksieprogram

- (b) Seleksie van die manlik-vruggbare komponent kan binne die stamboom seleksieprogram uitgevoer word. Seleksie kan dus oor 'n aantal seisoene gesprei word wat tot 'n beter evaluering van opbrengs en kwaliteit sal lei. Die risiko is egter dat indien seleksie te hewig is en die populasiegrootte klein is, dit die genetiese variasie te drasties mag inkort.
- (c) Bogemiddelde junior, senior en elite lyne kan uit die normale stamboom seleksieprogram geneem word om as manlik-vruggbare ouers te dien binne die herhalende seleksieprogram en so die genetiese variasie van die herhalende seleksieprogram te verbreed. So kan daar voortdurend nuwe gene, bv. siekteweerstandsgene, ingevoer word en 'n aanvaarbare agrotipe en agtergrond gehandhaaf word.
- (d) Die frekwensies van gene wat bydra tot swak kwaliteit en ander ongewenste kenmerke sal afneem tydens herhalende seleksie. Die verbeterde populasie kan beskerm word deur nuwe genotipes in te voer slegs nadat dit behoorlik geëvalueer is in 'n konvensionele seleksieprogram. Dit is moontlik om 'n subpopulasie te skep waarin nuwe genotipes aan herhalende seleksie onderwerp word (sg. "pre breeding") totdat die populasie sodanig verbeter is dat dit geïntegreer kan word met die hoofstroom herhalende seleksie program.
- (e) Herhalende seleksie kan aangewend word vir geenstapeling. In teenstelling met prosedures vir geenstapeling wat op terugkruising gebaseer is kan herhalende seleksie die genetiese agtergrond verryk en voortdurend verbeter.

Sodra die dominante manlike steriliteitsgeen gevestig is kan dit op roetine wyse aangewend word vir die verkryging van manlik-steriele, vroulike, are. Dit sou egter ook moontlik wees om 'n CHM te gebruik vir daarstelling van manlik-steriele are.



## Verwysings

- American Association of Cereal Chemists, 1976: Approved methods of the American Association of Cereal Chemists, Method 54-40. American Association of Cereal Chemists, Minnesota.
- Anderson, A.J., 1989: The biology of glycoproteins as elicitors. In: T. Kosuge en E.W. Nester (eds.), *Plant-Microbe Interactions - Molecular and Genetic Perspectives*, Vol.3, 87-130. McGraw-Hill Publishing Co., New York.
- Atherton, J.G., 1987: *Manipulation of flowering*. Butterworths. London.
- Baenziger, P.S., Kudirka, D.T., Shaeffer, G.W. en Lazar, M.D., 1990: The significance of double haploid variation. In: J.P. Gustafson (eds.), *Genetic manipulation in plant improvement II*, 19th Stadler Genet. Symp., 385-414. Plenum Press, New York.
- Bahieldin, A., Dyer, W.E. en Qu, R., 2000: Concentrations effects of Dicamba on shoot regeneration in wheat. *Plantbreeding* 119, 437-439.
- Banga, S.S. en Raman, R., 1998: Biotechnology and hybrid breeding. In: S.S. Banga en S.K. Banga (eds.), *Hybrid cultivar development*, 181-200. Narosa Publishing House, New Delhi, India.
- Barlow, K.K. and Driscoll, C.J., 1981: Linkage studies involving two chromosomal male sterility mutants in hexaploid wheat. *Genetics* 98, 791-799.
- Becker, H.C. en Leon, J., 1988: Stability analysis in plant breeding. *Plant Breeding* 101, 1-23.
- Bitzer, M.J. en Patterson, F.L., 1967: Pollen dispersal and cross-pollination of soft red winter wheat. *Crop Science* 7, 482-484.
- Blouet, A., Streiff, K. en Guckert, A., 1999: Possibilities for hybrid seed production in wheat. In: A.S. Basra (ed.) *Heterosis and hybrid seed production in agronomic crops*. 81 - 118. Haworth Press, London
- Briggle, L.W., 1967: Morphology of the wheat plant. In: *Wheat and wheat improvement*. American Society of Agronomy Monograph.
- Briggle, L.W., 1980: Origin and botany of wheat. In: E. Hafliger (ed.) *Wheat*. Ciba-Geigy, Basle, Switzerland.
- Bugbee, B., 1996: Nutrient management in recirculating hydroponic culture. [Http://www.usu.edu/~cpl/hsapaper.html](http://www.usu.edu/~cpl/hsapaper.html)
- Ceccarelli, S., Erskine, W., Hamblin, J. & Grando, S., 1994: Genotype by environment interaction and international breeding programmes. *Exploring Agriculture* 30, 177-187.
- Chander, S., Srivastava, R.B. en Yunus, M.D., 1993: Impact of intermating on population mean and genetic advance in wheat (*Triticum aestivum* L em Thell). *Cereal Research Communication* 21, 201-206.



- Chopra, V.L., Jain, S.K. en Swaminathan, M.S., 1960: Studies on the chemical induction of pollen sterility in some crop plants. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 20, 188-199.
- Chyi, Y-S., Taylor, J., Kellesvig, K. en Sernyk, L., 1994: Results of early versus late selection in backcross breeding using RFLP markers. Abstracts Plant Genome II Conference, San Diego, USA, 23.
- Cooper, M. en Delacy, I.H., 1994: Relationships among analytical methods used to study genotypic variation and genotype -by-environment interaction in plant breeding multi-environment experiments. *Theoretical and Applied Genetics* 88, 561-572.
- Cox, T.S., Sears, R.G. en Gill, B.S., 1991: Registration of KS87UP9, a winter wheat germplasm segregating for a dominant male sterility gene. *Crop Science* 31, 247.
- De Vries, A.P.H., 1972: Some aspects of cross-pollination in wheat (*Triticum aestivum* L.) 1. Pollen concentration in the field as influenced by variety, diurnal pattern, weather conditions and level as compared to the height of the pollen donor. *Euphytica* 21, 185-203.
- De Vries, A.P.H., 1974: Some aspects of cross-pollination in wheat (*Triticum aestivum* L.) 3. Anther length and number of pollen grains per anther. *Euphytica* 23, 11-19.
- De Wit, P.J.G.M., 1987: Specificity of active resistance mechanisms in plant-fungus interactions. In: C.F. Pegg en P.G. Ayres (eds.), *Fungal infection of plants*, 1-24. Cambridge University Press, Cambridge.
- Delzer, B.W., Busch, R.H. en Hareland, G.A., 1995: Recurrent selection of grain yield protein in hard red spring wheat. *Crop Science* 35, 730-735.
- Deng, J.Y. and Gao, J.L., 1982: Discovery and determination of a dominant male-sterile gene and its importance in genetics and wheat breeding. *Scientia Sinica (Series B)* 5, 508-520.
- Driscoll, C.J., 1972: XYZ system of producing hybrid wheat. *Crop Sciences* 12, 516-517.
- Driscoll, C.J., 1975: Cytogenetic analysis of two chromosomal male sterility mutants in hexaploid wheat. *Australian Journal of Biological Science*, 28, 413-416.
- Driscoll, C.J., 1977: Registration of "Cornerstone" male-sterile wheat germplasm. *Crop Science* 17, 190.
- Finney, K.F. en Shogren, M.D., 1972: A ten-gram mixograph for determining and predicting functional properties of wheat flours. *Bakers Digest* 46.2, 32-77.
- Flor, H.H., 1942: The inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. *Phytopathology* 32, 653-669.
- Flor, H.H., 1956: The complementary genic systems in flax and flax rust. *Advanced Genetics* 8, 29-54.
- Flor, H.H., 1971: Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review Phytopathology* 9, 275-296.
- Fukasawa, H., 1953: Studies on the restoration and substitution of nucleus in *Aegilotriticum* I. Appearance of male sterile *durum* in substitution crosses. *Cytologia* 18, 167-175.
- Gaines, E.F. en Aase, H.C., 1926: A haploid wheat plant. *American Journal of Botany* 13, 373-385.



- Hahn, M.G., Bucheli, P., Taylor, C., Song, W. en Langridge, P., 1989: Roles of cell wall constituents in plant-pathogen interactions. In: T. Kosuge en E.W. Nester (eds.), *Plant-Microbe Interactions - Molecular and Genetic Perspectives*, Vol.3, 131-181. McGraw-Hill Publishing Co., New York.
- Harris, D., 1987: *Hydroponics: The South African Guide to gardening without soil*. Struik, Cape Town.
- Hayward, M.D., Bosemark, N.O. & Romagosa, I., 1994: *Plant Breeding – Principles and Prospects*, 373-390. Chapman & Hall, London.
- Hill, J., 1975: Genotype-environment interactions – a challenge for plant breeding. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 85, 477-493.
- Hohls, T., 1975: Genotype-environment interactions - a challenge for plant breeding. *South African Journal of Science* 91, 120-124.
- Hoseney, R.C. en Finney, K.F., 1971: Functional (breadmaking) and biochemical properties of wheat flour components. XI. A review. *Bakers Digest* 45.4, 30-67.
- Hu, G. en Hulbert, S., 1994: Recombination at a complex rust resistance locus can generate alleles with race-nonspecific resistance and disease lesion mimic phenotype. Abstracts Plant Genome II Conference, San Diego, USA, 36
- Hu, H., 1992: In vitro induced haploids in wheat. In: S.M. Jain, S.K. Sopory en R.E. Veilleux (eds.), *In Vitro Haploid Production in Higher Plants*, Vol 4, 73-97. Kluwer Academic Publishers.
- <sup>a</sup>Huang, Y.Y.; Deng, J.Y. and Ma, W.J., 1993: Breeding new resistant cultivars by recurrent selection. In: Li, Z.S. en Xin, Z.Y. (eds), *Proceedings from the 8th International Wheat Genetics Symposium*, Beijing, China, 1273-1278.
- <sup>b</sup>Huang, D.C.; Liu, Z.Z.; Yang, Z.P.; Huang, Y.Y. and Deng, J.Y., 1993: Genetic progress of recurrent selection for resistance to scab (*Gibberella zeae*) in a gene pool of wheat. In: Li, Z.S. en Xin, Z.Y. (eds), *Proceedings from the 8th International Wheat Genetics Symposium*, Beijing, China, 983-987.
- Huang, Y.Y. and Deng, J.Y., 1988: The preliminary analysis of the effectiveness of utilization of “Taigu” genetic male sterile wheat in recurrent selection and complex crossing. In: Miller, T.E. en Koebner, R.M.D., *Proceedings from the 7th International wheat Genetics Symposium*, Cambridge, England. 1105-1108.
- Imrie, B.C., 1966: Stigma receptivity in cytoplasmic male sterile wheat. *Australian Journal of Experimental and Agricultural Animal Husbandry* 6, 175-178.
- Ivory, D.A., Kaewmeechai, S., DeLacy, I.H. & Basford, K.E., 1991: Analysis of the environmental component of genotype x environment interaction in crop adaptation evaluation. *Field Crops Research* 28, 71-84.
- Jan, C.C. en Rowell, P.L., 1981: Response of wheat tillers at different growing stages to gametocide treatment. *Euphytica* 25, 375-386.
- Jiang, G.L., Wu, Z.S. en Huang, D.C., 1993: Phenotypic recurrent selection for resistance to scab in wheat. In: Li, Z.S. en Xin, Z.Y. (eds), *Proceedings from the 8th International Wheat Genetics Symposium*, Beijing, China, 943-948.
- Johnson, R. en Lupton, F.G.H., 1987: Breeding for disease resistance. In: F.G.H. Lupton (ed.), *Wheat Breeding – Its Scientific Basis*. Chapman and Hall, London, 369-424.



- Johnson, R.R. en Brown, C.M., 1976: Chemical control of pollination in wheat and oats. *Crop Science* 16, 584-587.
- Johnson, R.R. en Brown, C.M., 1978: Use of DPX 3778 to produce hybrid wheat seed. *Crop Science* 18, 1026-1028.
- Kaul, C.L. en Singh, S.P., 1967: On induced male sterility in wheat, sunn-hemp and onion. *Indian Journal of plant Physiology* 10, 112-118.
- Kaul, M.L.H., 1988: Monograph of Theoretical and Applied Genetics, Vol. 10: Male sterility in higher plants. Springer-Verlag, Berlin.
- Khan, M.N., Heyne, E.G. en Arp, A.L., 1973: Pollen distribution and the seedset on *Triticum aestivum* L. *Crop Science* 13, 223-226.
- Kihara, H. en Tsunewaki, K., 1964: Some fundamental problems underlying the program for hybrid wheat breeding. *Seiken Zihō* 16, 1-14.
- Kihara, H., 1951: Substitution of nucleus and its effect on genome manifestation. *Cytologia* 10, 177-193.
- Kimber, G. en Sears, E.R., 1987: Evolution in the genus *Triticum* and the origin of cultivated wheat. In: E.G. Heyne (ed), Wheat and wheat improvement, 154-164. American Society of Agronomy, Madison.
- Knott, D.R., 1989: The wheat rust pathogens. In: D.R. Knott (ed.), The Wheat Rusts: Breeding for Resistance, 1-37. Springer-Verlag, Berlin.
- Lande, R.R. en Thompson, R., 1990: Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124, 743-756.
- Lander, E.S. en Botstein, D., 1989: Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121, 185-199.
- Lesch, A.J.G., 1997: Review on the development of haploid techniques in wheat. In: Production of doubled haploids in the wheat cultivar SST55, 1-32.
- Littlefield, L.J., 1981: Biology of plant rusts. Iowa State Univ Press, Ames.
- Löffler, C.M. Busch, R.H. en Wiersma, J.V., 1983: Recurrent selection for grain protein percentage in hard red spring wheat. *Crop Science* 23, 1097-1101.
- Lukaszewski, A.J., 1991: The E.R. Sears collection of wheat aneuploids: Present status. Proceedings of the second public workshop of the international *Triticeae* mapping initiative. Manhattan, Kansas, 66-67.
- Maan, S.S., Karlson, K.M., Williams, N.D. en Yang, T., 1987: Chromosome arm location and gene-centromere distance of a dominant gene for male sterility in wheat. *Crop Science* 27, 494-500.
- Maan, S.S.; en Williams, N.D., 1984: An EMS-induced dominant allele for male sterility transferred to euplasmic wheat. *Crop Science* 24, 851-852.
- Matzinger, D.F. en Wernsman, E.A., 1968: Four cycles of mass selection in a synthetic variety of an outogamous species *Nicotiana tabacum* L. *Crop Science* 8, 239-243.
- McIntosh, R.A., Wellings, C.R. en Park, R.F., 1995: Wheat rusts and the genetic bases of disease resistance. In: K. Jeans en A. Cloud-Guest (eds.), Wheat rusts: An atlas of resistance genes, 1-28. CSIRO Publications, Australia.



- Miller, J.F. en Lucken, K.A., 1976: Hybrid wheat seed production methods for North Dakota. *Crop Science* 16, 217-221.
- Miller, T.E., 1987: Systematics and evolution. In: F.G.H. Lupton (ed.), *Wheat breeding: its scientific basis*, 1-30. Chapman & Hall, London New York.
- Nelson, R.R., 1973: *Breeding Plants For Disease Resistance: Concepts and Applications*. The Pennsylvania State University Press, University Park, USA.
- Olmedo-Arcega, O.B., Elias, E.M. en Cantrell, R.G., 1995: Recurrent selection for grain yield in durum wheat. *Crop Science* 35, 714-719.
- Percival, J., 1921: *The wheat plant. A monograph*, 463. Duchworth and Co, London.
- Picard, E., Rode, A., Doussinault, G., Rousset, M. en Rives, M., 1990: Wheat (*Triticum aestivum*): In vitro production and utilization of doubled haploids. In: Y.P.S. Bajaj (ed.), *Biotechnology in agriculture and forestry*, Vol 12, 101-124. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- Pickett, A.A., 1998: Wheat. In: S.S. Banga en S.K. Banga (eds.), *Hybrid cultivar development*, 257-281. Narosa Publishing House, New Delhi, India.
- Pienaar, R. de V., Horn, M. en Lesch, A.J.G., 1997: A reliable protocol for doubled haploid accelerated wheat breeding. *Wheat Information Service*, Nr. 85, 49-51.
- Poehlman, J.M., 1987: *Breeding field crops*, 724pp. AVI publishers, Westport, Connecticut.
- Pretorius, Z.A., Kloppers, F.J., Boshoff, W.H.P., Le Roux, J. en Scott, D.B., 1996: Suid-Afrikaanse koring nou ook deur streeproes bedreig. *Koringfokus*, 14.6, 6-9.
- Pryor, T., 1987: The origin and structure of fungal disease resistance genes in plants. *TIG* 3, 157-161.
- Quisenberry, K.S., Reitz, L.P., 1967: *Wheat and Wheat Improvement*, American Society of Agronomy Monograph.
- Rajki, E. en Rajki, S., 1966: Research work on hybrid wheat at Martonvasar. *Acta Agron Acad Sci Hung* 15, 199-214.
- Rasmusson, J.M., 1933: A contribution to the theory of quantitative character inheritance. *Hereditas* 18, 245-261.
- Romagosa, I. en Fox, P.N., 1994: Genotype x environment interaction and adaption. In: Hayward, M.D., Bosemark, N.O. en Romagosa, I. (eds), *Plant breeding - Principles and prospects*, 373-390. Chapman and Hall, London, Engeland.
- Rowell, P.L. en Miller, D.G., 1974: Effect of 2-chloroethylphosphonic acid on female fertility of two wheat varieties. *Crop Science* 14, 31-34.
- Saini, H.S. en Aspinall, D., 1982: Abnormal sporogenesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) induced by short periods of high temperature. *Annals of Botany* 49, 835-846.
- Saini, H.S., Sedgley, M. en Aspinall, D., 1984: Development anatomy in wheat of male sterility induced by heat stress, water deficit or abscissic acid. *Australian Journal of Plant Physiology* 11, 243-253.
- Sax, K., 1923: Association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in *Phaseolus vulgaris*. *Genetics* 8, 552-560.



- Sears, E.R., 1966: Chromosome mapping with the aid of telocentrics. *Hereditas Supplement* 2, 370-381.
- Sears, E.R., 1978: The telocentric chromosomes of common wheat. In: Ramanujam, S.J. (ed.), *Proceedings from the 5th International Wheat Genetics Symposium*, New Delhi, Indië, 943-948.
- Schachermayer, G., Siedler, H., Gale, M.D., Winzeler, H., Winzeler, M. en Keller, B., 1994: Identification and localization of molecular markers linked to the *Lr9* leaf rust resistance gene of wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 88, 110-115.
- Schafer, J.F., 1987: Rusts, smuts and powdery mildew. In: E.G. Heyne (ed.), *Wheat and wheat improvement*, 2nd Ed Am Soc Agron, Madison USA, 542-584.
- Scott, D.B., 1990: Wheat diseases in South Africa, Department of Agricultural Development, Technical Communication no. 220, Republic of Sout Africa.
- Sidhu, G.S., 1987: Host-parasite genetics. In: J. Janick, (ed.), *Plant Breeding Reviews Vol. 5*, 393-433. Van Nostrand Reinhold Company, New York.
- Simmonds, N.W., 1980: *Principles of crop improvement*. Longman, London.
- Snedecor, G.W. en Cochran, W.G., (1967): *Statistical Methods*. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
- Stam, P., 1994: Marker-assisted breeding. In: J.W. van Ooijen en J. Jansen (eds.), *Biometrics in plant breeding: Applications of molecular markers*, 32-44. CPRO-DLO, Wageningen, Nederland.
- Stoskopf, N.C. en Rai, R.K., 1972: Cross-pollination in male sterile wheat in Ontario. *Canadian Journal of Plant Science* 52, 387-393.
- Trench, T.N., Wilkinson, D.J. and Esterhuysen, S.P., 1992: *South African Plant Disease Control Handbook*. Farmer Support Group, University of Natal, Pietermaritzburg.
- Tu, Z.P. en Banga, S.K., 1998: Chemical hybridizing agents. In: S.S. Banga en S.K. Banga (eds.), *Hybrid cultivar development*, 160-180. Narosa Publishing House, New Delhi, India.
- Wiese, M.V., 1977: *Compendium of Wheat Disease*. The American Phytopathological Society, Minnesota, USA.
- Wilson, P. en Driscoll, C.J., 1983: Hybrid wheat. In: R. Frankel (ed.), *Heterosis: reappraisal of theory and practise*. Monograph of Theoretical and Applied Genetics, Vol. 6, 94-123. Springer-Verlag, Berlin.
- Wolfe, M.S. en Gessler, C., 1992: The use of resistance genes in breeding: Epidemiological considerations. In: T. Boller en F. Meins (eds.), *Genes involved in plant defence*, 3-24. Springer-Verlag, Wien Germany.
- Worland, A.J. en Law, C.N., 1985: Aneuploidy in semidwarf wheat varieties. *Euphytica* 34, 317-327.
- Zeven, A.C., 1968: Cross Pollination and sources of restorer genes in wheat and a semi-hybrid variety. *Euphytica* 17, 75-81.
- Zeller, F.J., Cermenio, M.C. en Miller, T.E., 1991: Cytological analysis on the distribution and origin of the alien chromosome pair conferring blue aleurone color in several European common wheat strains. *Theoretical Applied Genetics* 81, 551-558.



**Aanhangsel A: Stambome van 60 F<sub>1</sub>-lyne (streeproes bestand) wat as manlike ouers benut is vir die bestuiwing van manlik steriele F<sub>1</sub> plante uit die kruising 95M186 (streeproes vatbaar)**

95M186/96K F<sub>1</sub>..

Beskrywing

- 84S254-3//SST66/5\*W84-17
- 84S254-3//VPM1/6\*W84-17
- 84S254-3/SST57
- 84S254-3//SST66/5\*W84-17
- 84S254-3//96US2/SST57
- 84S254-3//SST66/5\*W84-17
- 84S254-3/3/SST66/5\*W84-17//VPM1/4\*W84-17
- VPM1/6\*W84-17/3/Palmiet/A2398(Sol)//W84-17
- *Lr3a*/INIA/3\*W84-17/3/88M103-1466/4/SST66/5\*W84-17
- *Lr3a*/INIA/3\*W84-17/3/88M103-1466/4/SST66/5\*W84-17
- *Lr3a*/INIA/3\*W84-17/3/88M103-1466//VPM1/6\*W84-17
- *Lr3a*/INIA/3\*W84-17/3/88M103-1466//SST55
- *Lr3a*/INIA/3\*W84-17/3/88M103-1466//SST57
- Capelle Desprez/2\*W84-17//SST66/5\*W84-17
- Capelle Desprez /2\*W84-17//*Lr19-149*/7\*W84-17
- Capelle Desprez /2\*W84-17//VPM1/6\*W84-17
- Capelle Desprez /2\*W84-17/4/*Lr3a*/7\*W84-17/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466
- Capelle Desprez /2\*W84-17//SST57
- VPM1/2\*W84-17//SST3/3/SST66/5\*W84-17
- VPM1/2\*W84-17//SST3/3/VPM1/6\*W84-17
- VPM1/2\*W84-17//SST3/4/*Lr3a*/7\*W84-17/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466
- VPM1/2\*W84-17//SST3/3/VPM1/2\*W84-17//SST3
- W84-10/Palmiet//SST66/5\*W84-17
- W84-10/ Palmiet //SST55
- W84-10/ Palmiet //SST57
- Palmiet /A2398(Sol)//W84-17/4/*Lr3a*/7\*W84-17/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466
- Palmiet /A2398(Sol)//W84-17/3/SST57
- 96KO59//SST66/5\*W84-17
- 96KO59/4/*Lr3a*/7\*W84-17/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466
- SST66/5\*W84-17//Capelle Desprez/2\*W84-17
- SST66/5\*W84-17//*Lr19-149*/7\*W84-17
- SST66/5\*W84-17//VPM1/4\*W84-17/3/Capelle Deprez/2\*W84-17
- SST66/5\*W84-17//VPM1/4\*W84-17/3/W84-10/Palmiet
- SST66/5\*W84-17//VPM1/4\*W84-17/3/SST57
- SST66/5\*W84-17//VPM1/4\*W84-17/3/*Lr19-149*/7\*W84-17

## Aanhangsel A....(vervolg)

## Beskrywing

- *Lr19-149/7\*W84-17/3/Palmiet/A2398//W84-17*
- *Lr19-149/7\*W84-17//Sava/5\*Flameks-kortstrooi*
- *Lr19-149/7\*W84-17//93Sel3/Kariega*
- *Lr19-149/7\*W84-17//W84-10/Alpha*
- *Lr19-149/7\*W84-17/3/VPM1/2\*W84-17//SST3*
- *Lr19-149/7\*W84-17/3/Palmiet/A2398//W84-17*
- *Lr19-149/7\*W84-17//93Sel/Kariega*
- *VPM1/6\*W84-17/3/Palmiet/A2398//W84-17*
- *VPM1/6\*W84-17//Sava/5\*Flameks*
- *VPM1/6\*W84-17//T.tauschii*
- *VPM1/6\*W84-17//Capelle Desprez/2\*W84-17*
- *VPM1/6\*W84-17//93Sel3/Kariega*
- *VPM1/6\*W84-17/3/VPM1/2\*W84-17//SST3*
- *Lr157/7\*SST66/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/ Sava/5\*Flameks*
- *Lr19-149/7\*W84-17/5/Cando/T.tauschii//W107/3/SST3/2\*Inia66*
- *Lr19-149/7\*W84-17//W84-10/Kariega*
- *Lr19-149/7\*W84-17//93Sel3/Kariega*
- *SST66/5\*W84-17//SST57*
- *SST66/5\*W84-17//Lr19-149/7\*W84-17*
- *SST66/5\*W84-17//VPM1/4\*W84-17/3/W84-10/Palmiet*
- *Lr157/7\*SST66/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/5/  
Cando/T.tauschii//W107/4/SST3/5/2\*Inia66*
- *Lr157/7\*SST66/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/Palmiet/A2398//W84-17*
- *Lr157/7\*SST66/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/93Sel3/Kariega*
- *Lr151/7\*W84-17/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/W84-10/ Kariega*
- *Lr151/7\*W84-17/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/ Kariega //Lr19-149/6\*W84-17*



**Aanhangsel B: Lys van 44 enkelplant seleksies met voortreflike agrotipes en siekteweerstand soos geselekteer uit 'n stamboom seleksie program (1999-seisoen)**

Beskrywing

- SST66/2\*W84-17//Apha/SST57
- SST66/Kariega//W84-10/Kariega
- SST66/Kariega/3/SST66/Palmiet//W84-11/W84-10
- SST66/Kariega/3/SST66/5W84-17//VPM14W84-17
- Kinko/Kariega//W84-10/Alpha
- *Lr19-149/86K4*//SST66/Kariega
- Oogvlek/2\*Palmiet//76K62/W84-17/3/Palmiet/Kariega
- W84-10/Palmiet//SST55/Adam Tas
- W84-10/Palmiet//W84-10/Kariega
- W84-10/Palmiet//93Sel6/Kariega
- KS87UP9/Inia66//88M103-1466/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/88K23/88K33/5/*Lr19-149/7*\*SST66//88K37
- KS87UP9/Inia66//88M103-1466/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/88K23/88K33/5/SST66/5\*W84-17
- Kariega/3/Kinko/Kariega//SST55/Adam Tas
- Kariega/3/*Lr19-149/7*\*SST66//88K37
- SST3/SST65 (Streepoesbestand)
- 93M97R/94-14 (Streepoesbestand)
- 93M97R/SST825 (Streepoesbestand)
- 93M97R/W94-11 (Streepoesbestand)
- Amethyst/W84-17//W84-10/Palmiet/3/SST66/2\*W84-17//Alpha
- W84-10/Palmiet//SST66/5\*W84-17
- W84-10/Palmiet//SST55
- Alpha/94M97//*Lr19-149/7*\*W84-17
- Blou Aestivum/W84-17//*Lr19-149/7*\*W84-17
- *Lr19-149/7*\*W84-17//W84-10/Kariega
- *Lr19-149/7*\*W84-17//95M186/95M187
- *Lr19-149/7*\*W84-17//Sava/5\*Flameks
- *Lr19-149/7*\*W84-17/4/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/3/Blou CS/2\*W84-17
- *Lr19-149/7*\*W84-17/3/VPM1/2\*W84-17//SST3
- 95M186/93M178 (Hoë proteïen lyne)
- Palmiet/A2398/3/SST25//SST66/A2398
- 93Sel1/Alpha
- 93Sel6/Kariega
- 92M18-20/3/Inia/2\*W84-17//Kariega
- SST55/Kariega
- 88K23-A-4/Kariega

---

Aanhangsel B....(vervolg)

---

Beskrywing

---

- 88K33-A-1/Kariega
  - 92M30-35/3/SST66/2\*W84-17//Alpha
  - W84-10/Kariega
  - SST66/Kariega
  - Inia/2\*W84-17//Kariega
  - KS87UP9/Inia//88M103-1466/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/88K23-A-1
  - Palmiet/Kariega
  - Kariega/91K3
  - Palmiet/A2398/3/SST25//SST66/A2398
-



**Aanhangsel C: Lys van 64 enkelplant seleksies met voortreflike agrotipes en siekteweerstand soos geselekteer uit 'n stamboom seleksie program (2000-seisoen)**

Beskrywing

- SST66/2\*W84-17//Alpha/SST57
- SST66/2\*W84-17//Alpha/3/SST66/5\*W84-17
- SST66/2\*W84-17//Alpha/3/SST66/5\*W84-17//VPM1/4\*W84-17
- SST66/Kariega/4/*Lr3a*/7\*SST66/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466
- SST66/Kariega/3/SST66/Palmiet//W84-11/W84-10
- SST66/Kariega//SST66/5\*W84-17
- Kinko/Kariega//W84-10/Alpha
- *Lr19-149*/86K4//SST66/Kariega
- Oogvlek/2\*Palmiet//76K62/W84-17/3/Palmiet/Kariega
- Oogvlek/2\*Palmiet//76K62/W84-17/3/SST57
- W84-10/Palmiet//Palmiet/Kariega
- W84-10/Palmiet//W84-10/Kariega
- W84-10/Palmiet/3/SST66/Palmiet//W84-11/W84-10
- W84-10/Palmiet/3/*Lr19-149*/5\*SST66//88K37
- W84-10/Palmiet//SST57
- W84-10/Palmiet//SST66/5\*W84-17
- W84-10/Palmiet//Kariega
- W84-10/Palmiet//93Sel6/Kariega
- W84-10/Palmiet//93Sel6/Kariega
- KS87UP9/Inia//88M103-1466/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/88K23/88K33/5/Palmiet/Kariega
- KS87UP9/Inia//88M103-1466/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/88K23/88K33/5/W84-10/Kariega
- KS87UP9/Inia//88M103-1466/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/88K23/88K33/5/SST66/5\*W84-17
- KS87UP9/Inia//88M103-1466/3/VPM1/5\*W84-17//88M103-1466/4/88K23/88K33/5/SST66/5\*W84-
- Kariega/4/A1377/3/SST25//SST66/A2398
- Kariega/3/SST66/Palmiet//W84-11/W84-10
- Kariega/3/*Lr19-149*/7\*SST66//88K37
- Kariega//SST66/5\*W84-17
- Kariega//SST66/5\*W84-17
- SAVA/5\*Flameks//Palmiet/Kariega
- SAVA/5\*Flameks//SST66/5\*W84-17
- Capelle Desprez/2\*W84-17//W84-10/Kariega
- Inia/5\*Hoopvol//SST66/\*W84-17
- SST3/Marico
- W84-17(*Lr19*)/4/Columbus/*Sr33*/SST33/3/W84-17

## Aanhangsel C....(vervolg)

## Beskrywing

- 93M97R/SST825 (Streeproesbestand)
- 93M97R/W94-11 (Streeproesbestand)
- SST66/2\*W84-17//Alpha/SST57
- 84S254-3/SST57
- 84S254-3//SST66/5\*W84-17
- 84S254-3//SST66/5\*W84-17
- 84S254-3//SST66/5\*W84-17
- W84-10/Palmiet//SST66/5\*W84-17
- W84-10/Palmiet//VPM1/6\*W84-17
- W84-10/Palmiet//SST57
- Alpha/94M97//Lr19-149/7\*W84-17
- SST66/5\*W84-17//VPM1/4\*W84-17/3/W84-10/Palmiet
- *Lr19-149/7\*W84-17//W84-10/Palmiet*
- *Lr19-149/7\*W84-17//95M186/95M187*
- *Lr19-149/7\*W84-17//SAVA/5\*Flameks*
- *Lr19-149/7\*W84-17//W84-10/Alpha*
- *Lr19-149/7\*W84-17/3/VPM1/2\*W84-17//SST3*
- *Lr19-149/7\*W84-17//Capelle Desprez/2\*W84-17*
- Palmiet/A2398/3/SST25//SST66/A2398
- SST66/2\*W84-17//Alpha/3/SST57
- 93Sel6/Kariega
- 93Sel6/Kariega
- 93Sel6/Alpha
- 93Sel6/Alpha
- 93Sel7/Alpha
- 88K33/Kariega
- 88K33/Kariega
- 92M30/3/SST66/2\*W84-17//Alpha
- 92M30/3/SST66/2\*W84-17//Alpha
- W84-10/Alpha



---

**Aanhangsel D: Artikel soos gepubliseer in Plant Breeding 119, 440 - 442 (2000)****Short Communication****Recurrent selection using male sterility and hydroponic tiller culture in pedigree breeding of wheat**

G.F. MARAIS, W.C. BOTES and J.H. LOUW

<sup>1</sup>Department of Genetics, University of Stellenbosch, Private Bag X1, Matieland 7602, South Africa

*With 1 figure*

**Abstract**

A procedure for recurrent selection based on the male sterility gene, *Ms3*, was implemented. To facilitate the production of large numbers of hybrid progeny, a simple hydroponic system was developed in which male sterile tillers cut at the flowering stage can be pollinated and maintained for about eight weeks, long enough to produce a large quantity of viable hybrid seeds. The recurrent selection steps were integrated with a pedigree breeding programme employing different selection cycles for male and female plants. F<sub>1</sub> female plants are subjected to a single screening for seedling resistance. In addition to F<sub>1</sub> seedling screening, F<sub>2</sub> - F<sub>4</sub> male families are field selected for disease resistance, agrotypic and quality in a pedigree programme before being used in crosses.

**Key words:** *Triticum aestivum* - intercrossing - dominant male sterility - *Ms3*

Inbreeding increases the chance of fixation of alleles and reduces the chance of occurrence of new combinations of favourable alleles. This has led to the concept of enforcing cross-pollination of selected plants in cross populations (F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, etc.) of naturally self-pollinating



crops (Matzinger and Wernsman, 1968). Chander *et al.* (1993) reported positive responses for yield and yield components following two successive cycles of interbreeding with mild selection in the F<sub>2</sub> of two wheat crosses. Two cycles of recurrent selection increased durum wheat yield by 6.2% per cycle without loss in genetic variability (Olmedo-Arcega *et al.*, 1995). Löffler *et al.* (1983) increased flour protein content by 0.35-0.5 percent per cycle in two cycles of recurrent selection in hard red spring wheat, however, at the expense of grain yield. Delzer *et al.* (1995) similarly found that four cycles of recurrent selection resulted in a linear increase in wheat grain protein content but an associated decrease in grain yield. Huang & Deng (1988) proposed the use of the “Taigu” genetic male sterility gene, *Ms2*, to facilitate recurrent selection based on open pollination in wheat. The procedure was subsequently used to develop varieties with improved adaptation, quality (Huang *et al.*, 1993) and scab resistance (Jiang *et al.*, 1993). However, *Ms2* is not available for use outside China (Deng J.Y. 1988, Personal communication, Institute of Crop Breeding and Cultivation, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing, China). Another dominant gene for male sterility, *Ms3*, was found after EMS treatment of the seeds of an alloplasmic common wheat with *Aegilops squarrosa* cytoplasm (Maan and Williams, 1984). *Ms3* has stable expression in plants grown within the normal range of greenhouse temperatures for wheat, i.e. 16 - 25°C. However, under summer greenhouse conditions (21 - 35°C) its penetrance is incomplete. *Ms3* can not be used satisfactorily to effect cross pollination among plants grown in the field. Seed set on male sterile ears is normally low, selection needs to be done prior to flowering when foliar diseases are not yet fully developed and, most importantly, one cannot predict the extent of cross hybridization of the spatially scattered, selected plants. Therefore a hydroponic system was developed that would facilitate the pollination of large numbers of male sterile spikes with selected fertile spikes.

Accession KS87UP9 (Cox *et al.*, 1991) of winter wheat segregating for the dominant male sterility gene, *Ms3* (Maan & Williams, 1984), was obtained from the USDA-ARS, Dept of Agronomy, Kansas State University. A sterile KS87UP9 plant was pollinated with the spring wheat, “Inia 66”, and sterile F<sub>1</sub> plants were pollinated with a spring wheat breeding line. Male sterile progeny were then used in a multi-cross with seven spring wheat breeding lines and cultivars with diverse leaf and stem rust resistance. In 1996 the multi-cross F<sub>1</sub> (95M186) was field planted for the first time. This coincided with the first outbreak of yellow rust in South Africa and the material showed a high degree of susceptibility. In 1997 male sterile 95M186 F<sub>1</sub> plants were therefore pollinated with a total of 60 diverse stripe rust resistant



breeding lines (also exhibiting variation for resistance to other foliar diseases such as leaf rust, stem rust, mildew, *Septoria nodorum* and *Septoria tritici*) from an ongoing pedigree selection programme. The F<sub>1</sub> from the latter cross was labeled 96K109 and used together with further advanced selections from the pedigree selection programme to initiate each phase of the selection scheme and thus produce a suitable base population for integrating recurrent selection with pedigree breeding.

In order to assess the degree of cross pollination attainable under field conditions, 768 F<sub>1</sub>:96K109 plants were grown in the field in 1999. On each of 64 random male sterile plants, one ear was bagged, florets on one ear were cut open to facilitate pollination and one ear was left untreated. This was done prior to flowering. The average seed set was then determined for each group.

For crossing purposes, wheat tillers were cut at the flowering stage from greenhouse raised plants and immediately placed in water before being transferred to round, non-translucent plastic containers (with 94 holes drilled in the lid of each container). To each container was added 20% of a nutrient solution (consisting of 164 g Sol-u-fert T3T (Kynoch Fertilizers Pty Ltd, Milnerton, South Africa), 2g Microplex (Ocean Agriculture Pty Ltd, Muldersdrift, South Africa) and 77ml potassium nitrate in 100l H<sub>2</sub>O), 0.05% “Jik” (household detergent containing 3.5% sodium hypochlorite) and tap water. The containers were kept in a growth chamber (14h/10h day/night cycles; 16°C/12°C) for the duration of grain filling. An aquarium pump was used to continuously aerate the solution. Female tillers were cut just below the second last internode and the flag leaf was kept intact. To facilitate pollination, female tillers were cut shorter than male tillers. The florets on 30 - 50 male sterile tillers were cut open and grouped in the middle of a container. Care was taken to remove incompletely male sterile ears when cutting open the florets. A similar number of male tillers were stripped of their leaves and arranged around the female tillers. After allowing 5 - 6 days for pollination to occur the male tillers were discarded. Female tillers were trimmed once a week and transferred to a fresh solution.

The recurrent selection procedure implemented is outlined in Fig. 1. In year one RS F<sub>1</sub> hybrid seedlings are inoculated in a greenhouse with mixed inoculum of predominant leaf and stem rust pathotypes (leaf rust pathotypes UVPrt 2, 3, 8, 9 and 13 and stem rust pathotypes UVPgt 50, 51, 52 and 53 were used in the first cycle). Following the selection of individual seedlings on which primarily resistant infection types develop, the female and male components are handled separately. Female plants are raised in a greenhouse to provide



tillers for the crossing stage later in the year. Male fertile plants are allowed to self and the  $F_2$  -  $F_4$  families are space planted in the field in years two to four to be selected for disease resistance and agronomic type as part of an ongoing pedigree breeding programme. In year four a bulked seed sample is taken from each selected  $F_4$  row and used for micro quality determinations (flour extraction and mixograph characteristics). If deemed necessary, the male population can be supplemented with superior  $F_4$  selections from the routine pedigree programme.  $F_5$  seeds harvested from selected  $F_4$  plants are: (i) subjected to seedling screening for rust resistance and used as male parents in the fifth year, (ii) used to plant  $F_5$  head rows which are further evaluated as part of the routine pedigree breeding programme.

The experiment to determine the effectiveness of the *Ms3* system to achieve cross pollination in the field showed that florets that were cut open to promote outcrossing gave a seed set of 90%. This high success rate may have resulted from optimal environmental conditions at the time and may be lower if the exposed stigma get damaged under adverse weather conditions. The covered ears gave a seed set of 5% which can be attributed to incomplete penetrance of *Ms3* under field conditions. The untreated ears gave a seed set of 14.7%, thus, the frequency of cross pollination was about 10% and up to a third of the seeds produced on male sterile ears resulted from self pollination. Furthermore, it is likely that cross pollination would have resulted more often from plants in closer proximity. During initiation of the RS programme in 1999 a total of 9,560 plants were tested for leaf and stem rust seedling resistance. The female component contained 3,824  $F_1$ : 96K109 seedlings, the male component consisted of 4,109  $F_3$  seedlings from 157 field selected  $F_2$ : (96K109) plants and seeds from 44  $F_2$ - $F_4$  selections from the pedigree breeding programme. A total of 3,230 resistant seedlings were selected and planted to be used as immediate parents and source material for future male parents. A total of 448 sterile and 1,020 male fertile ears were used in the hydroponic pollination. These were intermated in 21 subsets which involved the pollination of between 8 - 44 male sterile ears with 23 - 56 male fertile ears. In total,  $\pm$  12,000  $F_1$  seeds were harvested, the seed set per ear being approximately 75%. The  $F_1$  seeds were small with a 1000 grain mass of 11.4 grams, yet had good viability. Further optimization of the culture procedure appears possible as preliminary results with the application of a mixture of GA<sub>3</sub> and 2,4-D to the cultured ears suggest that kernel weight can be increased by 50% or more using these hormones (unpublished data). Thus, little effort was needed to produce large numbers of diverse  $F_1$  hybrid seeds. Taking into account that especially the female component is highly heterogenous, the potential genetic variation created is considerable.



However, it should be kept in mind that the diversity realized will be determined by the heterogeneity of the base population, the sizes of the male and female populations and the success in synchronizing and placing of male spikes in such a manner that each has a chance to pollinate each female spike.

### Acknowledgements

The authors wish to thank the USDA-ARS department of Agronomy, Kansas State University for making available the *Ms3* gene and the Winter Cereals Research Trust for financing the project.

### References

- Chander, S., R.B. Srivastava, and M.D. Yunus, 1993: Impact of intermating on population mean and genetic advance in wheat (*Triticum aestivum* L em Thell). *Cereal Res. Comm.* **21**, 201-206.
- Cox, T.S., R.G. Sears, and B.S. Gill, 1991: Registration of KS87UP9, a winter wheat germplasm segregating for a dominant male sterility gene. *Crop Sci.* **31**, 247.
- Delzer, B.W., R.H. Busch, and G.A. Hareland, 1995: Recurrent selection of grain protein in hard red spring wheat. *Crop Sci.* **35**, 730-735.
- Huang, Y.Y., and J.Y. Deng, 1988: Preliminary analyses of the effectiveness of utilization of Taigu genetic male-sterile wheat in recurrent selection and complex crossing. In: T.E. Miller, and R.M.D. Koebner (eds.), *Proc. 7<sup>th</sup> Int. Wheat Genet. Symp.*, 1105-1108. Cambridge, England.
- Huang, Y.Y., J.Y. Deng, W.J. Ma, S.S. Zhao, H.Y. Zhang, and L. Lu, 1993: Breeding new resistant cultivars by recurrent selection. In: Z.S. Li, and Z.Y. Xin (eds.), *Proc. 8<sup>th</sup> Int. Wheat Genet. Symp.*, 1273-1278. Beijing, China.
- Jiang, G.L., Z.S. Wu, and D.C. Huang, 1993: Phenotypic recurrent selection for resistance to scab in wheat. In: Z.S. Li, and Z.Y. Xin (eds.), *Proc. 8<sup>th</sup> Int. Wheat Genet. Symp.*, 943-948. Beijing, China.
- Löffler, C.M., R.H. Busch, and J.V. Wiersma, 1983: Recurrent selection for grain protein percentage in hard red spring wheat. *Crop Sci.* **23**, 1097-1101.
- Maan, S.S., and N.D. Williams, 1984: An EMS-induced dominant allele for male sterility transferred to euplasmic wheat. *Crop Sci.* **24**, 851-852.
- Matzinger, D.F., and E.A. Wernsman, 1968: Four cycles of mass selection in a synthetic variety of an outogamous species *Nicotiana tabacum* L. *Crop Sci.* **8**, 239-243.
- Olmedo-Arcega, O.B., E.M. Elias, and R.G. Cantrell, 1995: Recurrent selection for grain yield in durum wheat. *Crop Sci.* **35**, 714-719.

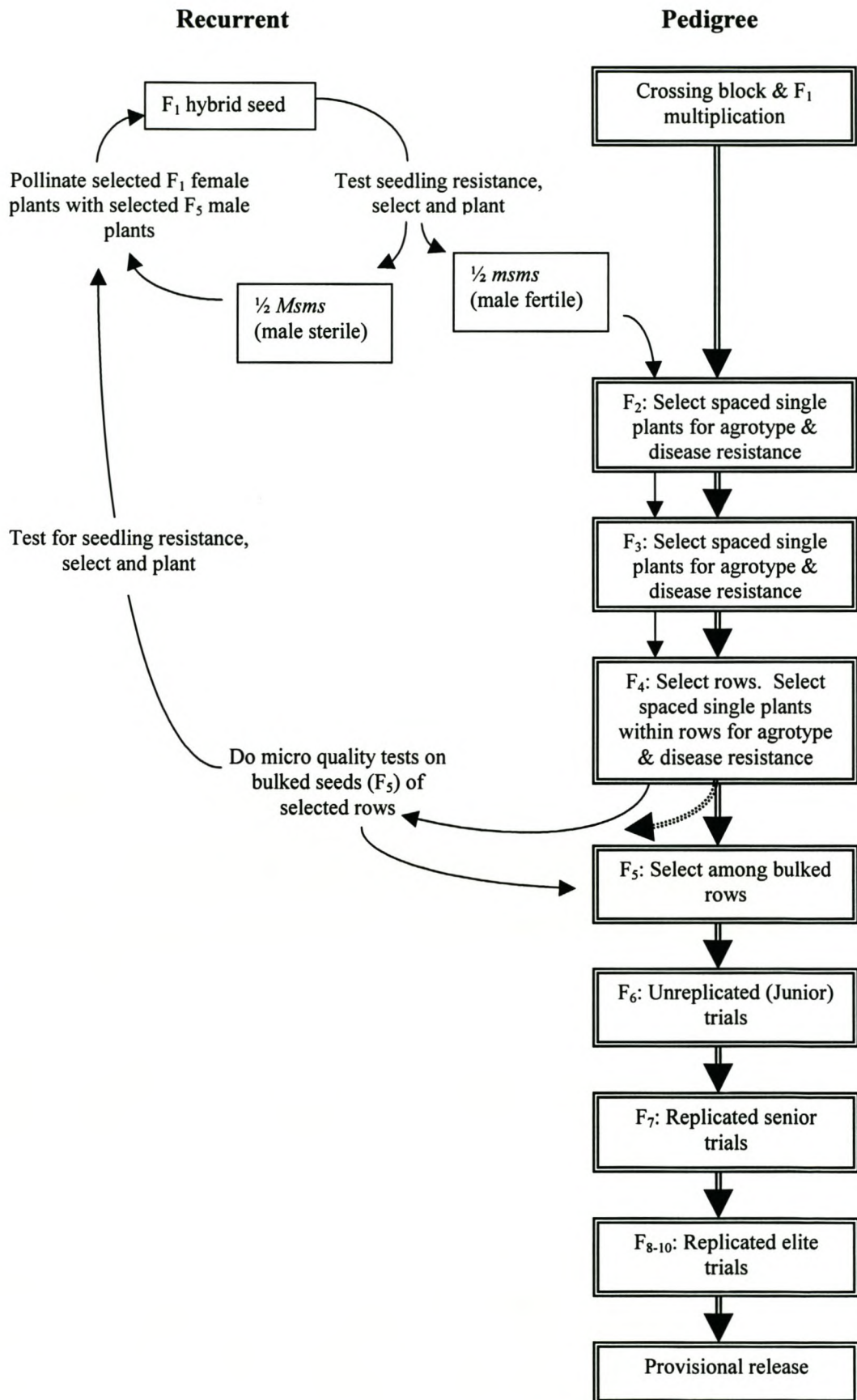


Fig. 1: Integration of recurrent selection steps in a pedigree breeding programme.